



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0063022
(43) 공개일자 2013년06월13일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/4965 (2006.01) *A61K 31/40* (2006.01)
A61K 31/7056 (2006.01) *A61K 38/21* (2006.01)

(21) 출원번호 10-2013-7009594(분할)

(22) 출원일자(국제) 2005년10월31일
심사청구일자 없음

(62) 원출원 특허 10-2007-7012147
원출원일자(국제) 2005년10월31일
심사청구일자 2010년10월29일

(85) 번역문제출일자 2013년04월15일

(86) 국제출원번호 PCT/US2005/039240

(87) 국제공개번호 WO 2006/050250
국제공개일자 2006년05월11일

(30) 우선권주장
60/623,542 2004년10월29일 미국(US)
(뒷면에 계속)

(71) 출원인
버텍스 파마슈티칼스 인코포레이티드
미국 매사추세츠주 02139-4242 캠브리지 웨이밸리
스트리트 130

(72) 발명자
추 후이-마이
미국 매사추세츠주 01760 나틱 그레이트 락 서클
6
에테 에네
미국 매사추세츠주 01701 프레밍햄 섬머 레인 8
(뒷면에 계속)

(74) 대리인
장훈

전체 청구항 수 : 총 44 항

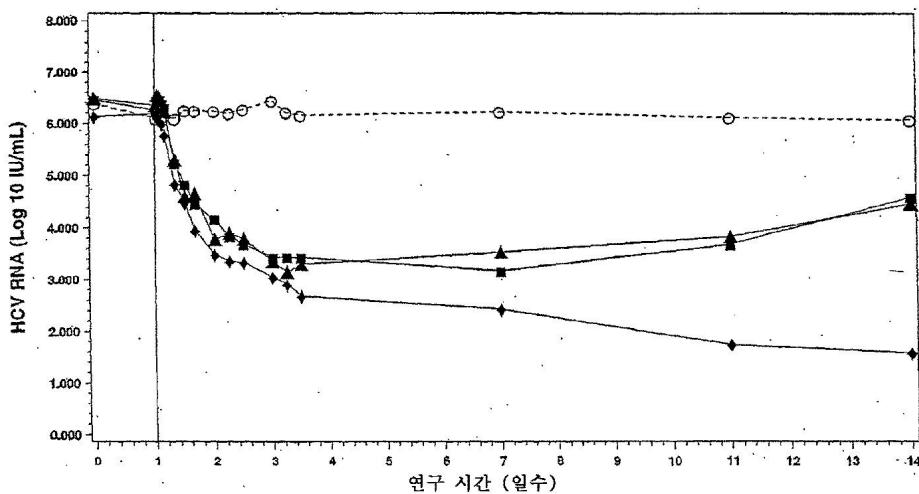
(54) 발명의 명칭 V X-950을 함유한 투여 형태 및 이의 투약 계획법

(57) 요 약

본 발명은 환자의 C형 간염을 치료 또는 예방하기 위한 항바이러스 요법 및 조성물, 그리고 본원에 개시된 다른 방법에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 조성물 및 투약 형태를 포함하는 키트 및 약제학적 팩에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 이러한 조성물, 투약 형태, 키트 및 팩을 제조하는 방법에 관한 것이다.

대 표 도

처리 말기의 처리군과 시점에서의 평균 HCV RNA
C형 간염 양성 피검체
완전한 분석 세트



○ ○ ○ 위약

■ ■ ■ VX-950 450 mg q8h

◆ ◆ ◆ VX-950 750 mg q8h

▲ ▲ ▲ VX-950 1250 mg q12h

주의: 단지 계획된 시점에서 관찰을 포함한다.

주의: 기준선(0일)은 모든 스크리닝 및 1일 투여전 값의 평균이다.

주의: Roche COBAS TaqMan HCV/HPS 분석 LOD 10IU/ml 미만의 값은 5IU/mL의 값으로 할당된다.

주의: Roche COBAS TaqMan HCV/HPS 분석 LLQ 30IU/ml 미만의 값은 20IU/mL의 값으로 할당된다.

주의: Roche COBAS TaqMan HCV/HPS 분석 ULOQ 200,000,000IU/ml 초과의 값은 200,000,000IU/mL의 값으로 할당된다.

(72) 발명자

맥네어 린제이

미국 매사추세츠주 02134 알스톤 바그날 스트리트
10

알람 존

미국 매사추세츠주 01890 윈체스터 프로스펙트 스
트리트 9

(30) 우선권주장

60/679,402 2005년05월09일 미국(US)

60/682,091 2005년05월17일 미국(US)

60/722,746 2005년09월30일 미국(US)

특허청구의 범위

청구항 1

VX-950 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을

약 100mg 내지 약 1500mg 범위;

약 300mg 내지 약 1500mg 범위;

약 300mg 내지 약 1250mg 범위;

약 450mg;

약 750mg; 또는

약 1250mg의 양으로 1일 1회, 2회 또는 3회 투여함을 포함하는 치료 계획법(therapeutic regimen).

청구항 2

제1항에 있어서, VX-950 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이

약 300mg 내지 약 1500mg 범위;

약 300mg 내지 약 1250mg 범위;

약 450mg;

약 750mg; 또는

약 1250mg의 양으로 1일 1회, 2회 또는 3회 투여되는 치료 계획법.

청구항 3

환자에게 VX-950 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 약 100mg 내지 약 1500mg 범위의 양으로 투여함을 포함하는, 환자의 C형 간염 바이러스 감염을 치료 또는 예방하는 방법.

청구항 4

제3항에 있어서, VX-950 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 양이 약 300mg 내지 약 1500mg 범위인 방법.

청구항 5

제4항에 있어서, VX-950 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 양이 약 300mg 내지 약 1250mg 범위인 방법.

청구항 6

제5항에 있어서, VX-950 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 양이 약 450mg인 방법.

청구항 7

제5항에 있어서, VX-950 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 양이 약 750mg인 방법.

청구항 8

제5항에 있어서, VX-950 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 양이 약 1250mg인 방법.

청구항 9

제3항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 명시된 양의 VX-950가 1일 1회 투여되는 방법.

청구항 10

제3항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 명시된 양의 VX-950가 1일 2회 투여되는 방법.

청구항 11

제3항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 명시된 양의 VX-950가 1일 3회 투여되는 방법.

청구항 12

제3항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 면역조절제; 항바이러스제; HCV NS3/4A 프로테아제의 또 다른 억제제; NS3/4A 프로테아제 외에 HCV 생활 주기 중의 표적 억제제; 내부 리보솜 진입 억제제, 광범위 바이러스 억제제; 다른 시토크롬 P-450 억제제; 바이러스 세포 진입 억제제; 또는 이의 혼합물 중에서 선택되는 추가 제제를 투여함을 포함하는 방법.

청구항 13

제12항에 있어서, 면역조절제가 α -, β -, 또는 γ -인터페론 또는 티모신이고; 항바이러스제가 리바비린, 아만타딘 또는 텔비부딘이며; 또는 HCV 생활 주기 중의 다른 표적의 억제제가 HCV 헬리카제, 폴리머라제 또는 메탈로프로테아제 억제제인 방법.

청구항 14

C형 간염 바이러스에 감염된 환자에게 약 750mg의 VX-950을 1일 3회, 8시간마다 투여함을 포함하여 상기 환자를 치료하는 방법.

청구항 15

C형 간염 바이러스에 감염된 환자에게 혈장 중의 C형 간염 바이러스 RNA를 약 $2 \log_{10}$ 이상 감소시키기에 효과적인 양으로 VX-950을 투여함을 포함하여 상기 환자를 치료하는 방법.

청구항 16

C형 간염 바이러스에 감염된 환자에게 혈장 중의 C형 간염 바이러스 RNA를 약 $4 \log_{10}$ 이상 감소시키기에 효과적인 양으로 VX-950을 투여함을 포함하여 상기 환자를 치료하는 방법.

청구항 17

C형 간염 바이러스에 감염된 환자에게 혈장 중의 C형 간염 바이러스 RNA를 검출불가능한 수준으로 감소시키기에 효과적인 양으로 VX-950을 투여함을 포함하여 상기 환자를 치료하는 방법.

청구항 18

C형 간염 바이러스에 감염된 환자에게 지속적인 바이러스 반응을 달성하기에 효과적인 양으로 VX-950을 투여함을 포함하여 상기 환자를 치료하는 방법.

청구항 19

제3항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 환자가 C형 간염 바이러스 유전자형 1로 감염된 방법.

청구항 20

환자에게 VX-950을 매일 약 1350mg(예컨대, 약 450mg q8h), 매일 약 2250mg(예컨대, 약 750mg q8h) 또는 매일 약 2500mg(예컨대, 약 q12h)의 양으로 투여함을 포함하여 환자의 간 손상, 간 염증, 지방증, 지방간, NASH, 알콜성 지방증 또는 라이 증후군을 치료하는 방법.

청구항 21

환자에게 VX-950을 매일 약 1350mg(예컨대, 약 450mg q8h), 매일 약 2250mg(예컨대, 약 750mg q8h), 또는 매일 약 2500mg(예컨대, 약 q12h)의 양으로 투여함을 포함하여 환자의 간을 보호하는 방법.

청구항 22

환자에게 VX-950을 투여함을 포함하여 환자의 ALT 수준을 감소시키는 방법.

청구항 23

ALT 수준이 상승된 환자에게 VX-950을 투여함을 포함하여 상기 환자의 ALT 수준을 정상화하는 방법.

청구항 24

제22항 또는 제23항에 있어서, VX-950이 환자에게 매일 약 1350mg(예컨대, 약 450mg q8h), 매일 약 2250mg(예컨대, 약 750mg q8h), 또는 매일 약 2500mg(예컨대, 약 q12h)의 함량으로 투여되는 방법.

청구항 25

제20항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 환자가 HCV로 감염된 방법.

청구항 26

제20항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 환자가 HCV로 감염되지 않은 방법.

청구항 27

투여 후 VX-950 평균 혈장 농도(C_{avg})가 약 750ng/ml 이상이 되도록, VX-950을 포함하는 투약 형태를 사람에게 투여하여, VX-950을 필요로 하는 사람에게 VX-950을 제공하는 방법.

청구항 28

제27항에 있어서, VX-950의 평균 혈장 농도(C_{avg})가 투여 후 약 750ng/ml 내지 약 1250ng/ml 범위인 방법.

청구항 29

제28항에 있어서, VX-950의 평균 혈장 농도(C_{avg})가 투여 후 약 1000ng/ml인 방법.

청구항 30

제27항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, C_{avg} 가 투여 후 3시간 이내에 수득/달성되는 방법.

청구항 31

제30항에 있어서, C_{avg} 가 투여 후 2시간 이내에 수득/달성되는 방법.

청구항 32

제31항에 있어서, C_{avg} 가 투여 후 1시간 이내에 수득/달성되는 방법.

청구항 33

제27항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 24시간 동안 VX-950 최저 혈장 수준을 최소 약 750ng/ml 내지 약 1500ng/ml로 유지시킴을 추가로 포함하는 방법.

청구항 34

24시간 동안 VX-950 최저 혈장 수준이 최소 750ng/ml 내지 약 1500ng/ml로 유지되도록, VX-950을 포함하는 하나 이상의 투약 형태를 24시간 동안 사람에게 투여함을 포함하는, HCV 감염된 사람의 치료 방법.

청구항 35

제33항 또는 제34항에 있어서, 투약 형태가 24시간 동안 VX-950 최저 혈장 수준이 최소 약 750ng/ml으로 유지되도록 투여되는 방법.

청구항 36

제33항 또는 제34항에 있어서, 투약 형태가 24시간 동안 VX-950 최저 혈장 수준이 최소 약 1000ng/ml로 유지되

도록 투여되는 방법.

청구항 37

제27항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, VX-950이 약 750mg의 함량으로 투약 형태에 존재하는 방법.

청구항 38

제37항에 있어서, 투약 형태가 1일 3회 투여되는 방법.

청구항 39

제27항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, C_{avg} 및 최저 수준 중 어느 하나 또는 둘 모두가 약 12주 동안 유지되는 방법.

청구항 40

제3항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 인터페론을 투여하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 41

제40항에 있어서, 인터페론이 폐질화된 인터페론인 방법.

청구항 42

제40항 또는 제41항에 있어서, 인터페론이 약 $180\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 양으로 투여되는 방법.

청구항 43

제40항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, 리바비린을 투여하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 44

VX-950이 실시예 6에 개시된 바와 같이 제형화되는 본 발명의 방법.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 C형 간염 바이러스 감염의 치료방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002] C형 간염 바이러스("HCV")에 의한 감염은 피할 수 없는 사람의 의학적 문제이다. HCV는 A형 및 B형 간염이 아닌 대부분의 경우에 원인 인자로서 인식되고 있고, 세계적으로 사람의 혈청 양성률은 3%인 것으로 추정되고 있다 [A. Alberti et al., "Natural History of Hepatitis C," J. Hepatology, 31., (Suppl. 1), pp. 17-24 (1999)]. 미국에서만 거의 4백만명이 감염되어 있는 것으로 추정된다[M.J. Alter et al., "The Epidemiology of Viral Hepatitis in the United States, Gastroenterol. Clin. North Am., 23, pp. 437-455(1994); M. J. Alter "Hepatitis C Virus Infection in the United States," J. Hepatology, 31., (Suppl. 1), pp. 88-91 (1999)].

[0003] HCV로 감염된 사람 중에서, 20 내지 25%는 급성 감염 후 바이러스가 제거될 수 있지만, 75 내지 80%는 만성 C형 간염으로 진행된다[서문, Frontiers in Viral Hepatitis. Ed. RF Schinazi, J-P Sommadossi, and CM Rice. p. xi. Elsevier(2003)]. 이 감염은 보통 재발성이며 진행적으로 악화되는 간 염증을 일으키고, 종종 경화증 및 간 세포 암종과 같은 더욱 심각한 질병을 유도하기도 한다[M.C. Kew, "Hepatitis C and Hepatocellular Carcinoma", FEMS Microbiology Reviews, 14, pp. 211-220 (1994); I. Saito et. al., "Hepatitis C Virus Infection is Associated with the Development of Hepatocellular Carcinoma," Proc. Natl. Acad. Sci .

USA, 87, pp. 6547-6549 (1990)]. 불행히도, 만성 HCV의 장기적인 진행에 대한 효과적인 광범위 치료법은 없다.

- [0004] HCV 게놈은 3010-3033개 아미노산의 다단백질을 암호화한다[Q.L. Choo, et. al., "Genetic Organization and Diversity of the Hepatitis C Virus," Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88, pp. 2451-2455 (1991); N. Kato et al., "Molecular Cloning of the Human Hepatitis C Virus Genome From Japanese Patients with Non-A, Non-B Hepatitis," Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87, pp. 9524-9528 (1990); A. Takamizawa et. al., "Structure and Organization of the Hepatitis C Virus Genome Isolated From Human Carriers," J. Virol., 65, pp. 1105-1113 (1991)]. HCV 비구조성(NS) 단백질은 바이러스 복제에 필수적인 촉매 기구를 제공하는 것으로 생각된다. NS 단백질은 다단백질의 단백분해 절단에 의해 유도된다[R. Bartenschlager et. al., "Nonstructural Protein 3 of the Hepatitis C Virus Encodes a Serine-Type Proteinase Required for Cleavage at the NS3/4 and NS4/5 Junctions," J. Virol., 67, pp. 3835-3844 (1993); A. Grakoui et. al., "Characterization of the Hepatitis C Virus-Encoded Serine Proteinase: Determination of Proteinase-Dependent Polyprotein Cleavage Sites," J. Virol., 67, pp. 2832-2843 (1993); A. Grakoui et. al., "Expression and Identification of Hepatitis C Virus Polyprotein Cleavage Products," J. Virol., 67, pp. 1385-1395 (1993); L. Tomei et. al., "NS3 is a serine protease required for processing of hepatitis C virus polyprotein," J. Virol., 67, pp. 4017-4026 (1993)].
- [0005] HCV NS 단백질 3(NS3)은 대부분의 바이러스 효소의 프로세싱(processing)에 도움이 되는 세린 프로테아제 활성을 함유하고, 따라서 바이러스 복제 및 감염력을 필수적인 것으로 간주된다. 황열바이러스 NS3 프로테아제의 돌연변이는 바이러스 감염력을 감소시키는 것으로 알려져 있다[Chambers, T.J. et. al., "Evidence that the N-terminal Domain of Nonstructural Protein NS3 From Yellow Fever virus is a Serine Protease Responsible for Site-Specific Cleavages in the Viral Polyprotein," Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87, pp. 8898-8902 (1990)]. NS3의 처음 181개 아미노산(바이러스 다단백질의 잔기 1027-1207)은 HCV 다단백질의 전체 4개 다운스트림 부위를 프로세싱하는 NS3의 세린 프로테아제 도메인을 함유하고 있는 것으로 밝혀져 있다[C. Lin et al., "Hepatitis C Virus NS3 Serine Proteinase: Trans-Cleavage Requirements and Processing Kinetics," J. Virol., 68, pp. 8147-8157 (1994)].
- [0006] HCV NS3 세린 프로테아제 및 이의 관련 보조인자(cofactor), NS4A는 모든 바이러스 효소의 프로세싱을 도와주는 바, 바이러스 복제에 필수적인 것으로 간주된다. 이러한 프로세싱은 바이러스 효소 프로세싱에도 관여하는 사람 면역결핍 바이러스 아스파тиль 프로테아제에 의해 수행되는 것과 유사한 것으로 보인다. 따라서, 바이러스 단백질 프로세싱을 억제하는 HIV 프로테아제 억제제는 사람에게 효과적인 항바이러스제로서, 이 단계의 바이러스 생활 주기 억제는 치료학적 활성제임을 시사한다. 결과적으로, 약물 개발에 매력적인 표적이다.
- [0007] 현재 만족할만한 항HCV 제제 또는 치료법은 전혀 없다. 최근까지, HCV 질병을 위해 구축된 유일한 요법은 인터페론 치료였다. 최초로 승인된 HCV 감염의 요법은 표준(폐길화 되지 않은) 인터페론 알파를 이용한 치료였다. 하지만, 인터페론은 상당한 부작용을 나타내고[M. A. Wlaker et al., "Hepatitis C Virus: An Overview of Current Approaches and Progress," DDT, 4, pp. 518-29 (1999); D. Moradpour et al., "Current and Evolving Therapies for Hepatitis C," Eur. J. Gastroenterol. Hepatol., 11, pp. 1199-1202 (1999); H. L. A. Janssen et al. "Suicide Associated with Alfa-Interferon Therapy for Chronic Viral Hepatitis," J. Hepatol., 21, pp. 241-243 (1994); P.F. Renault et al., "Side Effects of Alpha Interferon," Seminars in Liver Disease, 9, pp. 273-277, (1989)], 인터페론 알파 단독요법은 일부(약 25%) 증례에서만 장기적 완화를 유도한다[O. Weiland, "Interferon Therapy in Chronic Hepatitis C Virus Infection", FEMS Microbiol. Rev., 14, pp. 279-288 (1994)]. 이 치료 계획에 대한 리바비린의 첨가는 반응률을 약간 증가시킨다. 최근 폐길화된 인터페론 형태(PEG-INTRON® 및 PEGASYS®)의 도입과 이와 함께 리바비린을 사용하는 경우에도, 완화율 개선이 크지 않고 부작용 감소도 부분적이었다. 현재 치료의 기준은 HCV 유전자형 및 요법에 대한 최초 반응의 증거와 같은 예후 인자에 따라 24 내지 48주 동안 지속되는 치료 계획법이다. 더욱이, 유효 항HCV 백신의 전망은 불확실한 상태이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0008] 따라서, 항HCV 치료법 및 항HCV 화합물의 적당한 투약 계획은 여전히 연구되어야 할 과제이다.
- [0009] HCV 및 여타 질병 및 장애는 간 손상과 관련이 있다. 따라서, 간 손상을 치료하는 요법 및 적당한 투약 계획도 연구되어야 할 과제이다.

과제의 해결 수단

- [0010] 발명의 개요
- [0011] 본 발명은 C형 간염 바이러스 감염의 치료방법을 제공한다. 또한, 본 발명은 C형 간염 바이러스 감염의 임상 후 유증 예방법도 제공한다.
- [0012] 본 발명은 또한 간 손상 및 간 염증의 치료방법도 제공한다.

도면의 간단한 설명

- [0013] 도 1a 및 도 1b는 투여 수준별로 평균 농도 대 시간 프로필을 도시한 것이다(실시예 3).
도 2a 내지 도 2d는 유도된 약역학적 파라미터를 도시한 것이다. 박스 내의 선은 평균값을 나타내고, 박스는 테이터의 중간 절반의 한계를 나타낸다(실시예 3).
도 3은 14일간 연구하는 동안에 관찰된 혈장 중의 HCV RNA 농도(IU/ml)를 도시한 것이다.
도 4는 14일간 연구하는 동안에 기준선에 대한 관찰된 혈장에 존재하는 HCV RNA 농도(IU/ml)의 변화량을 도시한 것이다.
도 5는 750mg q8h 투여 그룹의 각 피검체에서 14일간 연구하는 동안에 관찰된 기준선에 대한 HCV RNA 농도(IU/ml)의 변화량을 도시한 것이다.

도 6은 모든 투여그룹에서 관찰되는 평균 네오프테린, ALT(알라닌 아미노트랜스퍼라제) 및 HCV RNA +/- SEM을 도시한 것이다. 도 6에 사용된 기호는 다음과 같은 것이다: 평균 ALT 수준의 기준선으로부터의 변화량±SEM(최상단의 4개의 선, 개방 기호), 평균 혈장 네오프테린 수준±SEM(중간 4개의 선, 개방 기호) 및 평균 혈장 HCV RNA 부하량±SEM(하단 4개 선, 폐쇄 기호)를 3개 투여 그룹 모두와 위약 그룹에서 측정하여 제시했다. 환자는 VX-950을 이용하여 14일 동안 치료했다. 450mg q8h 그룹에서 12일째 나타나는 평균 ALT 수준의 일시적 증가는 인위적 결과이다(10개 시료 중 5개에서는 보이지 않았고, 평균값 38U/l, 범위 25 내지 125U/l)(실시예 5).

도 7은 모든 그룹의 평균 네오프테린값±SEM을 도시한 것이다. 3개 투여 그룹 모두 및 위약 그룹에 대해 치료전 및 7일 및 14일째 평균 혈장 네오프테린 수준±SEM. 주목할 점은 평균 네오프테린의 저하가 750mg q8h 투여 그룹에서 가장 크고, 치료전 값이 가장 높고, 14일째 평균값이 가장 낮았다. 750mg q8h 투여 그룹에서, 기준선 및 위약 대비 네오프테린의 저하는 14일째 유의적인 값이 되었다(독립적 양측 T 검정, 만 회트니 검정). Y=7.7nmol/l에서 끊어진 수평선은 ULN을 나타낸다(실시예 5).

도 8, 9 및 10은 시험관내 HCV NS3/4A 프로테아제에 의한 TRIF(TLR3 어댑터 단백질)의 절단이 VX-950에 의해 억제된다는 것을 도시한 것이다.

도 8(IFN- β TRIF 또는 TICAM-1을 유도하는 어댑터를 함유하는 toll-IL1 수용체 도메인)은 각종 단백질 결합 도메인을 나타내는 TRIF의 모식도를 도시한 것이다. HCV NS3 프로테아제에 의한 Cys 372에서의 TRIF 절단은 2개의 단편 Δ C340 및 Δ N372를 생성시킨다(Li et al 2005, PNAS, 102, p2992-2997의 변법).

도 9는 HCV NS3 프로테아제에 의한 TRIF 절단의 동역학에 대해 도시한 것이다. 35S 메티오닌 표지되고 커플링된 TRIF 단백질의 시험관내 전사/해독 산물(기질로서)을 tNS3 프로테아제 6 μ M과 0 내지 240분 범위의 다양한 시간 동안 항온배양한 뒤, SDS-PAGE로 분석했다. 겔을 포스포이미저(phosphor imager)에 노출시켜 절단 산물을 정량분석했다. Δ N372 절단 산물의 정량분석 결과는 시간의 함수로서 이 도면에 제시한 바와 같다.

도 10은 NS3 프로테아제 의존적 TRIF 절단 및 VX-950에 의한 TRIF 절단 억제를 도시한 것이다. 35S 메티오닌 표지되고 커플링된 TRIF 단백질의 시험관내 전사/해독 산물(기질로서)을 0에서 4 μ M까지 증가하는 농도의 tNS3 프로테아제 효소와 VX-950 10 μ M의 존재(○) 또는 부재(□) 하에 항온배양한 다음, SDS-PAGE로 분석하고 포스포이

미저에 노출시켰다. \triangle N372 절단 산물의 정량분석 결과는 이 도면에 제시한 바와 같다.

도 11, 12 및 13은 바이러스 변이체에 대한 적합도(fitness) 감소에 대해 도시한 것이다.

도 11은 시험관내 VX-950 내성 돌연변이체의 표현형적 특징을 설명한 것이다. 시험관내 효소 반응(K_i) 또는 2일 레플리콘 분석(IC_{50})에서 야생형 프로테아제에 비해 A156V/T 돌연변이에 의해 VX-950에 대한 내성이 증가되었다.

야생형 효소과 비교하여 돌연변이체의 K_{cat}/K_m 비를 표에 제시했다(Lin et al. 2005, JBC, 280, p36784-36791의 변법).

도 12는 야생형(WT) NS3 프로테아제와 비교하여 A156V/T 돌연변이에 의한 HCV 4A/B 기질의 절단에 대해 도시한 것이다. 사이에 4A/B 이음부를 두고 SEAP 단백질과 융합시킨 35S 메티오닌 표지되고 커플링된 불활성화된 HCV 돌연변이 프로테아제의 시험관내 전사/해독 산물(기질로서)을 $0.008 \mu M$ 에서부터 $6 \mu M$ 에 이르는 야생형(WT)(□) 또는 A156V/T(△ 및 ○) tNS3 프로테아제의 다양한 양과 항온배양한 뒤, SDS-PAGE로 분석하고 포스포이미저에 노출시켰다. \triangle N372 절단 산물의 정량 분석 결과는 이 도면에 제시한 바와 같다.

도 13은 야생형(WT) NS3 프로테아제와 비교하여 A156V/T 돌연변이에 의한 TRIF 기질의 절단에 대해 도시한 것이다. 35S 메티오닌 표지되고 커플링된 TRIF의 시험관내 전사/해독 산물(기질로서)을 $0.008 \mu M$ 에서부터 $6 \mu M$ 에 이르는 야생형(WT)(□) 또는 A156V/T(△ 및 ○) tNS3 프로테아제의 다양한 양과 항온배양한 뒤, SDS-PAGE로 분석하고 포스포이미저에 노출시켰다. \triangle N372 절단 산물의 정량 분석 결과는 이 도면에 제시한 바와 같다.

도 14는 기준선, 7일 및 14일에서의 평균 HCV RNA, 네오프테린 및 ALT 값을 정리한 것이다(실시예 5).

도 15 및 16은 VX-950이 센다이 바이러스에 의해 감염된 Huh7 세포에서의 IFN β 의존적 유전자 발현을 복원시키는 데이터를 도시한 것이다.

도 15는 센다이 바이러스에 의해 자극된 Huh7 세포에서 나타나는 HCV 프로테아제에 의한 IFN- β 프로모터 활성의 억제에 대해 도시한 것이다. Huh7 세포는 야생형(WT) 또는 불활성화된 돌연변이(MT) 프로테아제 중 어느 하나와 함께 IFN- β 프로모터의 조절 하에 루시퍼라제 유전자를 발현하는 플라스미드로 동시형질감염시킨 다음, 센다이 바이러스(SeV)로 자극했다. 센다이 바이러스로 유도되지 않은 대조군 대비 루시퍼라제 유전자의 활성화 배수는 이 도면에 제시한 바와 같다.

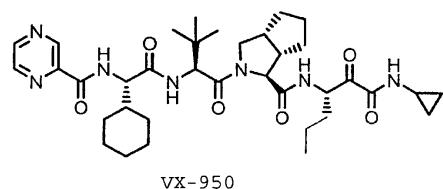
도 16은 VX-950 처리가 센다이 바이러스에 의해 자극된 IFN- β 프로모터 활성에 대한 HCV 프로테아제의 억제 효과를 압도할 수 있음을 도시한 것이다. Huh7 세포는 야생형(WT) 또는 불활성화된 돌연변이(MT) 프로테아제 중 어느 하나와 함께 IFN- β 프로모터의 조절 하에 루시퍼라제 유전자를 발현하는 플라스미드로 동시형질감염시켰다. 이 세포를 DMSO(대조군) 또는 $10 \mu M$ VX-950으로 처리했다. 세포를 센다이 바이러스(SeV)로 자극하고 감염 후 16시간째 루시퍼라제 활성을 측정했다. 센다이 바이러스에 의해 유도되지 않은 대조군 대비 루시퍼라제 유전자의 활성화 배수는 이 도면에 제시한 바와 같다.

도 17은 VX-950 처리가 종전 HCV 요법에 대한 비반응자(도 17a) 및 치료 투약을 받은 적이 없는 환자(도 17b)에서 HCV RNA를 감소시킨다는 데이터를 도시한 것이다. 각 치료 계획마다의 환자의 평균 HCV RNA 수준을 도시했다. 혈장 HCV RNA 농도는 Roche COBAS TaqMan HCV/HPS 분석법으로 측정했다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0014]

본 발명은 VX-950 투여의 구체적인 용량 및 투약 계획에 관한 것이다. VX-950은 안정 상태 결합 상수(K_i)가 $7nM$ 인 경쟁적, 가역성 펩티도모사체 NS3/4A 프로테아제 억제제이다[WO 02/018369].



[0015]

[0016] VX-950은 단일 투여량으로 사람에서 검사된 바 있고 허용성이 양호한 것으로 확인되었다(실시예 3). 부작용의 빈도 또는 심각성은 VX-950 투여량에 의해 증가하지 않았다. 심각한 것으로 간주되는 부작용(등급 3 또는 4)은

전혀 없었다. 혈액학 또는 임상 화학 파라미터에 따라서 기본 실험 값의 임상적으로 유의적인 변화는 전혀 없었다. 검사된 임의의 피검체에 대한 신체 검사, 활력 징후 또는 심전도에서도 임상적으로 유의적인 변화는 없었다.

- [0017] VX-950의 약역학적 프로필을 측정하는 분석을 수행했다. 그 데이터는 도 1 및 도 2에 도시했다.
- [0018] VX-950에 대한 간 노출 검사 결과는 임상전 데이터와 임상 데이터를 합산한 값을 근거로 하여 예측했다. 예측된 사람 간 노출 검사 결과를 VX-950 레플리콘 분석 및 감염성 바이러스 분석 결과(이하 참조)와 조합하여 양호한 허용성이고 치료학적 유익을 제공할 것으로 예상되는 투여량을 결정했다. 예상된 평균 간 농도 값은 조사된 투여량 범위에서 레플리콘 분석 IC₅₀의 57배 이하, 레플리콘 분석 IC₅₀의 113배 이하였다.
- [0019] 이러한 결과는 본 발명의 투약 계획이 비임상 연구에서 측정된 IC₅₀ 및 IC₉₀을 상당히 초과하는 VX-950 간 농도를 달성할 것이라는 것을 시사한다.
- [0020] 따라서, 본 발명의 제1 양태는
- [0021] a) 약 100mg 내지 약 1500mg 범위;
- [0022] 약 300mg 내지 약 1500mg 범위;
- [0023] 약 300mg 내지 약 1250mg 범위;
- [0024] 약 450mg;
- [0025] 약 750mg; 또는
- [0026] 약 1250mg 양의 VX-950 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염; 및
- [0027] b) 약제학적으로 허용되는 담체를 함유하는 약제학적 조성물을 제공한다.
- [0028] 또한, 본 발명은 VX-950 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을
- [0029] 약 100mg 내지 약 1500mg 범위;
- [0030] 약 300mg 내지 약 1500mg 범위;
- [0031] 약 300mg 내지 약 1250mg 범위;
- [0032] 약 450mg;
- [0033] 약 750mg; 또는
- [0034] 약 1250mg의 양으로 1일 1회, 2회 또는 3회 투여하는 치료 계획법을 제공한다. 본 발명에 따른 치료 계획법은 VX-950을 1개 이상의 투약 형태로 투여하는 것을 포함시키기 위한 것이다.
- [0035] 제2 양태로서, 본 발명은 환자에게 VX-950 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 약 300mg 내지 약 1500mg 범위의 양으로 투여하는 것을 포함하여 환자의 HCV 감염을 치료하거나 예방하는 방법을 제공한다.
- [0036] 특정 양태에 따르면, VX-950의 투여량은 적어도 약 300mg이다. 다른 양태에 따르면, VX-950의 투여량은 적어도 약 450mg이다. 또 다른 양태에 따르면, VX-950의 투여량은 적어도 약 500mg이다. 또 다른 양태에 따르면, VX-950의 투여량은 적어도 약 750mg이다. 또 다른 양태에 따르면, VX-950의 투여량은 적어도 약 1250mg이다. 또 다른 양태에 따르면, VX-950의 투여량은 적어도 약 1500mg이다.
- [0037] 또 다른 양태에 따르면, VX-950의 투여량은 약 1500mg 이하이다. 다른 양태에 따르면, VX-950의 투여량은 약 1250mg 이하이다. 또 다른 양태에 따르면, VX-950의 투여량은 약 750mg 이하이다. 또 다른 양태에 따르면, VX-950의 투여량은 약 450mg 이하이다. 또 다른 양태에 따르면, VX-950의 투여량은 약 500mg 이하이다. 또 다른 양태에 따르면, VX-950의 투여량은 약 300mg 이하이다.
- [0038] 물론, VX-950 투여의 바람직한 투여량 범위를 제공하기 위하여, 이러한 양의 하한 및 상한이 조합될 수도 있음을 당연한 것이다. 예를 들어, 일 양태에 따르면 VX-950 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염은 약 300mg 내지 약 1250mg 범위의 양이다.

- [0039] 특정 양태에 따르면, VX-950은 약 450mg의 양으로 투여된다. VX-950은 약 500mg의 양으로 투여된다. 다른 양태에 따르면, VX-950은 약 600mg의 양으로 투여된다. 또 다른 양태에 따르면, VX-950은 약 750mg의 양으로 투여된다. 또 다른 양태에 따르면, VX-950은 약 1000mg의 양으로 투여된다. 또 다른 양태에 따르면 VX-950은 약 1250mg의 양으로 투여된다.
- [0040] 이러한 임의의 양태들에서, VX-950의 양은 1일 1회 투여된다. 또는, VX-950의 양은 1일 2회(BID; q12h) 투여된다. 또는, VX-950의 양은 1일 3회(예, TID; q8h) 투여된다. VX-950은 식사와 함께 또는 식사 없이 투여될 수 있다.
- [0041] 또한, VX-950은 사람에 대해 검사되었고, HCV 복제의 억제에 효과적인 것으로 밝혀졌다. 본 출원인은 VX-950의 투여가 HCV RNA 수준을 실질적으로 감소시킬 수 있음을 입증했다. 중요한 점은, VX-950을 HCV 감염 피검체에게 투여하면 이 바이러스 RNA가 Roche COBAS TaqMan™ HCV/HPS 분석(Roche Molecular Diagnostics에서 입수용이함)에 의해 검출되지 않게 될 정도로 바이러스를 억제할 수 있음을 입증한 것이다. VX-950 750mg을 8시간마다(q8h) 투여한 8명의 피검체 중에서 4명의 HCV RNA 수준은 정량분석 한계(LLQ 30IU/ml) 이하였고, 이러한 4명 중 2명은 검출한계(LLD 10 IU/ml) 이하였다.
- [0042] VX-950 750mg을 8시간마다 투여받은 피검체는 14일간의 치료 말기에 $4 \log_{10}$ 초과(즉, 10,000배 감소)의 HCV-RNA 평균 감소값을 나타냈다. $2 \log_{10}$ 초과의 HCV-RNA 평균 감소값은 14일간의 치료 말기에 다른 두 VX-950 투여량 그룹에서 각각 관찰되었다. VX-950을 투여받은 모든 피검체는 치료 개시 3일 이내에 $2 \log_{10}$ 초과의 HCV-RNA 감소를 나타냈고, VX-950을 투여받은 28명 피검체 중 26명은 치료 개시 3일 이내에 $3 \log_{10}$ HCV-RNA 감소를 나타냈다. 실시예 5 및 도 3 내지 5를 참조한다.
- [0043] 혈장 바이러스 부하량은 VX-950 처리된 환자에서 급격하게 감소하는 것으로 확인되었다. 또한, 투여 완료 후, 기본 HCV RNA 수준으로의 복귀가 느린 것으로 확인되었다. 구체적으로, 치료 완료 후 HCV RNA 기본 수준으로의 복귀율은 치료 시 HCV RNA 감소율보다 더 느렸다. 이러한 결과와 함께 검출할 수 없는 HCV RNA 수준의 달성을 VX-950의 단독요법으로서의 유효성을 시사한다.
- [0044] 따라서, 본 발명은 HCV로 감염된 환자에게 VX-950 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 a) 약 450mg의 양으로 1일에 3회, 8시간마다; b) 약 750mg의 양으로 1일에 3회, 8시간마다; c) 약 1250mg의 양으로 1일 2회, 12시간마다; 또는 d) 약 1250mg의 양으로 1일 3회 8시간마다 투여하는 것을 포함하여 HCV로 감염된 환자를 치료하는 방법을 제공한다.
- [0045] 다른 양태에 따르면, 본 발명은 환자의 HCV RNA 수준이 치료 전보다 치료 후 적어도 약 $2 \log$ (바람직하게는 적어도 약 $4 \log$) 낮아지도록 HCV 감염 환자에게 VX-950을 투여하는 방법을 제공한다. 다른 양태에 따르면, 본 발명은 환자의 바이러스 RNA 수준이 검출할 수 없는 수준으로 감소하고 "지속적인 바이러스 반응(sustained viral response)"이 달성될 때까지 검출할 수 없는 수준에서 유지되도록 HCV로 감염된 환자에게 VX-950을 투여하는 방법을 제공한다. 통상 정의되는 바와 같이, "지속적인 바이러스 반응"이란 투여량 투여가 완료 후 24주간 바이러스 RNA 수준이 검출할 수 없는 수준으로 유지되는 것을 의미한다.
- [0046] 특정 이론에 국한하려는 것은 아니지만, 8시간마다 VX-950 750mg을 이용하는 본 발명의 방법은 더 높은 최저 수준(trough level)을 제공하기 때문에 바람직한 방법으로 생각된다. 최저 수준은 약물이 다음 투여 직전에 혈장에서 떨어지는 농도(즉, 투약 사이의 최소 농도)이다. 약물 수준은 특히 바이러스 질병에서, 바이러스 복제의 적당한 억제를 유지하기 위해 특정 농도 이상으로 유지되는 것이 중요하다. 바람직하게도, 본 출원인은 검사된 계획법 중에서 가장 높은 최저 수준이 VX-950 750mg을 8시간마다 투여한 계획법에서 유도된다는 것을 발견했다.
- [0047] 따라서, 바람직한 양태로서 본 발명은 VX-950 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 약 750mg의 양으로 하루에 3회, 8시간마다 투여하는 것을 포함하는 방법을 제공한다.
- [0048] 인지되는 바와 같이, 투여 스케줄은 융통성이 있는 것이 유리하다. 따라서, 본 발명의 다른 양태에 따르면, 투여는 1일 3회이지만, 8시간마다는 아니며, 경우에 따라 식사 도중 투여일 수 있다. 특정 양태에 따르면, VX-950은 식사와 함께 투여한다.
- [0049] 또한, 본 발명은 VX-950을 함유하는 조성물의 경우 투여량을 사람에게 투여하는 것을 포함하고, 이 때 투여량이 상기 사람에게 투여 후 VX-950의 평균 혈장 농도(C_{avg})가 적어도 약 750ng/ml가 되게 하는 것인, VX-950을 이를 필요로 하는 사람에게 제공하는 방법을 제공한다. 특정 양태에 따르면, 평균 혈장 농도(C_{avg})는 약 1000ng/ml 또

는 약 1250ng/ml이다. 특정 양태에 따르면, 상기 투여량은 근본적으로 VX-950 750mg을 함유한다. 이러한 양태에서, (C_{avg})는 투여 후 3시간 이내, 바람직하게는 2시간 이내, 더욱 바람직하게는 1시간 이내에 수득/달성된다. 이러한 양태의 바람직한 형태에 따르면, (C_{avg})는 약 24시간 동안, 바람직하게는 12주 동안 유지된다.

[0050] 특정 양태에 따르면, 본 발명은 24시간 동안 최저 혈장 VX-950 수준이 최소 약 750ng/ml으로 유지되도록 투여되는, VX-950을 함유한 적어도 하나의 투약 형태를 24시간 동안 투여하여 환자의 HCV 감염을 치료하는 방법을 제공한다.

[0051] 이러한 양태의 특정 형태에 따르면, 상기 투약 형태는 최저 혈장 VX-950 수준이 최소 약 800ng/ml으로 유지되도록 투여되고, 바람직하게는 24시간 동안 약 900ng/ml으로, 더욱 바람직하게는 24시간 동안 약 1000ng/ml으로 유지되도록 투여된다.

[0052] 바람직한 특정 양태에 따르면, 치료학적 유효 혈장 농도가 수득되고, 특정 최저 수준이 유지된다. 이러한 방법들은 최저 VX-950 혈장 수준이 24시간 동안 최소 약 750, 800, 900 또는 1000ng/ml로 유지되는 VX-950 제제를 투여하여, HCV 감염을 앓고 있는 사람을 치료하는데 특히 유용하다. 특정 이론에 국한하려는 것은 아니지만, 약 1500ng/ml를 초과하는 최저 수준은 본 발명에 필요하지 않은 것으로 생각된다. 따라서, 약 750, 800, 900, 1000ng/ml 내지 약 1500ng/ml(특히 1000 내지 약 1500)의 최저 수준이 본 발명의 범위에 속하는 것이다.

[0053] 또한, 본 발명은 VX-950을 함유하고, 24시간 동안 적어도 1회 투여했을 때 24시간 동안 적어도 약 750ng/ml, 800ng/ml, 900ng/ml 또는 1000ng/ml 내지 24시간 동안 약 1500ng/ml(특히 1000ng/ml 내지 약 1500ng/ml)인 최저 혈장 VX-950 수준을 유지하는, 사람에게 VX-950을 전달하기 위한 투약 형태를 제공한다.

[0054] 이상적으로, 본 발명의 방법이 HCV 감염 환자의 치료에 관련된 것일 때, 이 방법은 VX-950의 치료학적 유효 혈장 농도를 비교적 신속하게 달성하는 단계 및 그 다음 그 유효 치료 반응이 달성되도록 최저 수준을 유지하는 단계를 수반한다. 유효 치료 반응은 a) 지속적인 바이러스 반응 달성; 및 b) 적어도 12주(12주 이상) 동안 혈장 내에 HCV RNA 검출불가능 달성 중 하나 또는 둘 모두인 것이 바람직하다. 본 명세서에 사용된 바와 같이, "검출 불가능한" HCV RNA는 통용되는 분석으로 측정 시, 바람직하게는 Roche COBAS TaqMan™ HCV/HPS 분석법으로 측정 시, 존재하는 HCV RNA가 10 IU/ml 미만인 것을 의미한다.

[0055] 혈장 농도의 비교적 신속한 저하는 환자에게 초기 투여량(loading dose) 투여시 수득될 수 있다. 일 양태에 따르면, 초기 투여량은 VX-950 약 1250mg이다.

[0056] 본 발명의 특정 투약 형태에 따르면, 이 투약 형태(초기 투여량 투여에 사용된 투약 형태 이외)는 VX-950 약 750mg을 함유하고, 이 투약 형태는 매 24시간 동안 3회 투여한다.

[0057] 특정 양태에 따르면, VX-950을 이용한 치료 기간은 현행 표준 치료 기간보다 짧다.

[0058] 특정 양태에 따르면, 본 발명에 따른 방법은 C형 간염 바이러스 유전자형 1로 감염된 환자의 치료를 수반한다. HCV 유전자형 1 감염은 HCV 중에서 치료하기가 가장 어렵고 미국에서 가장 만연된 군주이다.

[0059] 또한, 출원인은 VX-950의 투여가 네오프테린 및 ALT의 생체내 수준을 감소시킨다는 것도 입증했다(도 6, 도 7 및 도 14). 또한, AST(아스파르테이트 아미노트랜스퍼라제) 수준도 VX-950 투여 시 감소했다. ALT는 간 세포에 존재하는 효소로서; 간 세포가 손상되거나 염증이 생기면 ALT는 세포로부터 혈액으로 유출된다. 따라서, 혈액의 ALT 수준은 간 염증 또는 손상의 마커로서 유용하다[Tatyana Yashina & J. Sanders Sevall, "Hepatitis C Virus" in Use and Interpretation of Laboratory Tests in Gastroenterology, James B. Peter, ed. , p. 127, (1998); and Andres T. Blei, "Liver and Biliary Tract" in Laboratory Medicine, D. A. Noe and Robert C. Rock, eds., ch. 19, p. 363 (1994)].

[0060] 네오프테린(6-d-에리트로-트리하이드록시프로필프테리딘)은 구아노신 트리포스페이트(GTP) 대사 동안 생산되는 프테리딘 유도체이다. 네오프테린은 인터페론 감마 또는 인터페론 알파에 의해 활성화 시 단핵구 및 대식세포에 의해 주로 생산되고 염증 마커이다. 네오프테린 수준은 만성 HCV 감염 시 흔히 상승된다(Quiroga, et al. Dig Dis Sci 1994;39 (11): 2485-96). 정상인의 예상 네오프테린 혈장 수준은 3.1 내지 7.7nmol/l이다.

[0061] 따라서, 본 출원인은 (HCV) NS3 · 4A 프로테아제 억제제의 투여 동안 단핵구/대식세포 활성의 마커로서 혈청 네오프테린 농도의 변화를 측정했다. 본 명세서에 기술되는 바와 같이, VX-950을 HCV 유전자형 1로 감염된 34명의 환자에게 무작위 이중맹검, 위약 대조된 복수 투여량 연구로 14일 동안 투여했다(표 1). 환자에게 VX-950 450mg q8h(n=10), 750mg q8h(n=8), 1250mg q12h(n=10) 또는 위약(n=6)을 투여했다. 혈청 네오프테린 농도를 치료전,

7일 및 14일째, 그리고 추적검사 10일째 정량분석용 경쟁 ELISA(ELItest® Neopterin, Brahms, Hennigsdorf, Germany)로 측정했다. 검출 하한(LLD)은 2nmol/l 였다. HCV RNA는 검사 중에 실시간 PCR(COBAS® TaqMan HCV 검사; 3.0×10^1 내지 2.0×10^8 HCV RNA IU/ml의 직선 동적 범위; 10 HCV RNA IU/ml의 LLD; Roche Diagnostics, Branchburg, NJ)을 통해 빈번하게 평가했다.

- [0062] VX-950의 투여 동안 모든 환자는 모든 투여량 그룹에서 바이러스 부하량의 $>2 \log_{10}$ 감소를 나타냈다(표 2). 750mg q8h 투여량 그룹에서, HCV RNA 평균값은 3일째 $3.6 \log_{10}$ 으로 감소했고, 14일째 $4.3 \log_{10}$ 으로 감소했다. 450mg q8h 및 1250mg q12h 투여량 그룹에서, 최대 효과는 3일 내지 7일째 관찰되었고, 그 다음 7일과 14일 사이에 바이러스 부하량 평균값이 증가되었다. 추적 검사 동안 모든 투여량 그룹의 바이러스 부하량 평균값은 증가했다. HCV 치료 투약을 받은 적이 없는 환자 및 사전 치료를 받은 적이 있는 환자 모두 본 발명의 방법으로부터 유익을 얻을 수 있다는 것도 바람직하다. 도 17a 및 도 17b에 도시된 바와 같이, 사전 치료를 받은 적이 있는 환자 및 치료 투약을 받은 적이 없는 환자는 VX-950에 대해 반응했다. 분명히 말하자면, 본 발명의 방법에 따라 치료될 수 있는 환자에는, HCV 치료가 시도되지 않았거나 실패한 환자, 예컨대 비반응 환자, 반동 환자, 재발환자 및 돌발 환자 등이 포함된다.
- [0063] 네오프테린 기준선은 34명 중 23명의 환자에서 상승했다(평균값 9.33nmol/l; 정상인의 상한(ULN) 7.7nmol/l). 750mg 투여량 그룹에서 기준선 및 위약 그룹 대비 네오프테린의 감소는 14일째 유의적인 수준이 되었다(750 mg q8h 투여량 그룹 기준선 v 14일, $10.48 \pm 0.84 \text{ nmol/l}$ v $7.32 \pm 0.48 \text{ nmol/l}$, $P = 0.0104$, 만 휘트니 검정; 750 mg q8h 투여량 그룹 v 위약 14일, $7.32 + 0.48 \text{ nmol/l}$ v $9.81 \pm 1.36 \text{ nmol/l}$, $P = 0.0036$, 독립적 양측 T 검정). 네오프테린 평균값 수준은 750mg q8h 투여량 그룹에서만 14일째 정상값 수준이 되었다(도 7 및 도 14 참조). 450mg q8h 투여량 그룹 및 1250mg q12h 투여량 그룹에서는 네오프테린 평균값 수준의 감소가 더 적었다(도 6, 7 및 14). 네오프테린 평균값 수준은 위약 그룹에서는 변하지 않았다(도 6 및 도 7). 네오프테린 평균값 수준은 모든 투여량 그룹에서 추적검사 동안 증가했다.
- [0064] 기준선에서 상승된 ALT 평균값 수준은 모든 그룹에서 투여량 투여 동안 감소했다(도 6). ALT 평균값 수준은 추적 검사 동안 모든 투여 그룹에서 증가하여 기준선으로 회복되었다.
- [0065] HCV RNA는 7일 후 450mg 투여 그룹 및 1250mg 투여 그룹에서는 증가했지만, 네오프테린 및 특히 ALT는 계속 감소했다. 네오프테린 평균 농도의 변화는 VX-950의 투여 동안 HCV RNA 및 ALT 수준의 저하와 상관성이 있었다. 네오프테린 평균 농도의 최대 저하는 14일째 750mg q8h 투여 그룹에서 나타났다. 또한, 이 그룹에서 14일째 HCV RNA의 최대 감소도 나타났다. 450mg q8h 및 1250mg q12h 투여 그룹에서는 7일 후, ALT 및 네오프테린 수준이 감소한 반면 HCV RNA 수준은 증가했다. 이러한 데이터는 VX-950에 의한 HCV 복제의 억제가 바이러스 감염과 관련된 전신 염증성 활성을 크게 감퇴시킨다는 것을 암시한다.
- [0066] 또한, VX-950은 동물 모델에서 상승된 ALT 수준을 개선시킨다(WO 2005/025517 참조). 구체적으로, SCID 마우스에서의 WT-HCV 프로테아제-SEAP의 발현은 ALT 수준을 상승시키고, 이것은 VX-950 치료에 의해 개선될 수 있다. SCID 마우스에서 WT-HCV 프로테아제 단독 발현도 역시 시간과 투여량에 의존적인 ALT 수준의 상승을 초래한다.
- [0067] 따라서, 본 발명의 또 다른 양태는 HCV 양성 또는 HCV 음성인 환자의 간 손상, 간 염증, 지방증, 지방간, 비-알콜성 지방간 질환(NAFLD), 비-알콜성 지방간염(NASH), 알콜성 지방증 및 라이 증후군 중 하나 이상을 치료 또는 예방하는 방법을 제공한다. 또한, 본 발명은 HCV 양성 또는 음성인 환자의 간보호 방법을 제공한다.
- [0068] 또한, 출원인은 VX-950이 시험관내에서 면역 회피를 차단한다는 것을 입증했다.
- [0069] VX-950은 센다이 바이러스로 감염된 Huh7 세포에서 IFN β 의존적 유전자 발현을 복원시킨다. IFN β 프로모터 활성은 WT HCVpro의 존재 하에 센다이 바이러스 자극에 대한 반응으로 감소한다. VX-950은 IFN β 프로모터 활성화의 WT HCVpro 매개 억제를 압도한다. 도 15 및 도 16.
- [0070] 더욱이, NS3/4A는 TRIF 의존적 기작(뿐만 아니라 바이러스 다단백질 프로세싱) 등에 의한 선천적 방어의 회피에 관여하는 것으로 알려져 있다. 이러한 면역 회피는 바이러스 지속을 유도한다. 따라서, 바이러스 다단백질 프로세싱 및 선천적 방어의 회피를 모두 억제하는 화합물이 바람직하다. 유리하게도, VX-950은 이 두 작용을 모두 수행하는 것으로 밝혀져 있다. 구체적으로, VX-950은 TLR3 어댑터 단백질인 TRIF의 시험관내 절단을 억제한다. 도 8-10.
- [0071] 이론적으로 국한하려는 것은 아니지만, 모델화는 VX-950이 NS3 프로테아제에 의한 TRIF 절단을 억제한다는 것을

암시한다. TRIF는 NS3 프로테아제 활성 부위의 비-프라임 측면(non-prime side)에 결합한다. VX-950은 TRIF와 같은 활성 부위의 비-프라임 측면에 결합하여 TRIF 절단을 차단한다.

- [0072] 또한, 본 출원인은 2개의 VX-950 바이러스 변이체 A156T 및 A156V가 TRIF 또는 4A/4B를 절단하는 능력이 감소되었다는 것을 밝혀냈다. (C. Lin et al. "In Vitro Studies of Cross-resistance Mutations Against two Hepatitis C Virus Serine Protease Inhibitors VX-950 and BILN 2061", J. Biol. Chem., (August 8, 2005). 이러한 바이러스 변이체는 잘 들어맞지 않기 때문에 바이러스 다단백질 프로세싱 및 바이러스 지속에 비효율적이다. 이론적으로 한정하려는 것은 아니지만, 이것은 4A/4B 및 TRIF 기질에 대한 결합에 영향을 미치는 A156의 입체 장애와 관련이 있다. 도 11-13.
- [0073] 이것은 VX-950이 직접적인 항바이러스제 및 면역 회피 억제제로서 작용한다는 것을 시사한다. 따라서, 본 발명은 숙주 방어의 HCV 프로테아제 매개 회피를 억제하는 방법을 제공한다.
- [0074] 이러한 결과와 함께 본 명세서에 개시된 생체내 데이터는 단독요법으로서의 VX-950의 유효성을 나타낸다.
- [0075] 본 발명에 따른 VX-950의 양은 단일 투약 형태 또는 2개 이상의 투약 형태로 투여된다. 분할 투약 형태인 경우에, 각 투약 형태는 거의 동시에 투여된다. 분명하게 설명하면, 하루에 한번보다 많은 투여량을 필요로 하는 투여 계획법의 경우에는 하나 이상의 알약 또는 투여량을 하루에 매회 마다 제공할 수 있다(예컨대, 알약 1개씩 하루에 3회 또는 알약 3개씩 하루에 3회). 본 발명의 대부분의 양태들은 투약당 알약 적어도 2개를 이용한다.
- [0076] VX-950은 하나 이상의 비대칭 탄소 원자를 함유할 수 있고, 따라서 라세미체 또는 라세미 혼합물, 단일 거울상 이성질체, 부분입체이성질체 혼합물 및 각각의 부분입체이성질체로서 존재할 수 있다. 이러한 화합물의 모든 이성질체 형태는 본 발명에 분명하게 포함되는 것이다. 각 스테레오오지닉(stereogenic) 탄소는 R 배위 또는 S 배위일 수 있다. VX-950의 N-프로필 측쇄에서의 D 이성질체 및 L 이성질체는 본 발명에 분명하게 포함되는 것이다. 본 발명의 바람직한 양태는 VX-950을 이용한다.
- [0077] 당업자라면 이해할 수 있듯이, 본 발명의 방법이 환자를 예방적으로 치료하는데 사용되고 있고, 이 환자가 C형 간염 바이러스에 감염된다면 상기 방법은 상기 감염을 치료할 수 있다. 따라서, 본 발명의 일 양태는 환자의 C형 간염 감염을 치료 또는 예방하는 방법을 제공한다.
- [0078] C형 간염 바이러스에 의해 감염된 환자를 치료하는 것 외에도, 본 발명의 방법은 환자가 C형 간염에 감염되지 않게 예방하는 데에도 사용될 수 있다. 따라서, 본 발명의 일 양태는 환자에게 본 발명에 따른 조성물 또는 투약 형태를 환자에게 투여하는 것을 포함하여 환자의 C형 간염 바이러스 감염을 예방하는 방법을 제공한다.
- [0079] 또한, 본 발명의 방법은 면역조절제; 항바이러스제; HCV 프로테아제 억제제(VX-950 이외의 것); HCV 생활 주기 중의 다른 표적(NS3/4A 프로테아제 외에 다른 표적) 억제제; 내부 리보솜 진입 억제제, 광범위 바이러스 억제제; 또는 시토크롬 P-450 억제제; 또는 이의 혼합물 중에서 선택되는 추가 제제를 포함하는 추가 성분의 투여를 수반할 수도 있다. 추가 제제는 또한 바이러스 세포 진입 억제제 중에서 선택되기도 한다.
- [0080] 따라서, 다른 양태에 따르면, 본 발명은 VX-950과 다른 항바이러스제, 바람직하게는 항HCV제를 투여하는 것을 포함하는 방법을 제공한다. 이러한 항바이러스제에는 면역조절제, 예컨대 α -, β -, 및 γ -인터페론 또는 티모신, 폐길화 유도체화된 인터페론- α 화합물, 및 티모신; 다른 항바이러스제, 예컨대 리바비린, 아만타딘 및 텔비부딘; 다른 C형 간염 프로테아제 억제제(NS2-NS3 억제제 및 NS3-NS4A 억제제); HCV 생활 주기 중의 다른 표적의 억제제, 예컨대 헬리카제, 폴리머라제 및 메탈로프로테아제 억제제; 내부 리보솜 진입 억제제; 광범위 바이러스 억제제, 예컨대 IMPDH 억제제(예, 미국 특허 5,807,876, 6,498,178, 6,344,465, 6,054,472, WO 97/40028, WO 98/40381, WO 00/56331 및 마이코페놀산 및 이의 유도체, 예컨대 VX-497, VX-148 및/또는 VX-944, 이에 국한되지 않는다); 또는 이들의 임의의 혼합물이 포함되나, 이에 국한되는 것은 아니다.
- [0081] 다른 약제(예컨대, 비면역조절성 또는 면역조절성 화합물)는 본 발명의 화합물과 함께 사용될 수 있고, 그 예에는 본 발명에 참고인용되는 WO 02/18369(예컨대, 273쪽 9 내지 22줄 및 274쪽 4줄 내지 276쪽 11줄, 이 명세서는 본 발명에 구체적으로 참고인용되었다)에 명시된 것이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다.
- [0082] 또 다른 약제에는 다수의 공개된 미국 특허출원들에 기술된 것이 있다. 이러한 공개공보들은 본 발명의 방법에 특히 간염 치료에 VX-950과 함께 사용될 수 있는 화합물 및 방법이 추가 교시되어 있다. 이러한 임의의 방법 및 조성물은 본 발명의 방법 및 조성물과 함께 사용될 수 있을 것으로 생각된다. 간략히 설명하기 위해 이 공보들의 명세서는 공보번호를 참고적으로 인용하고 있지만 이 화합물의 명세가 구체적으로 본 발명에 참고인용되고 있음을 유념해야 한다. 이러한 공보의 예에는 미국 특허 공개번호 20040058982; 미국 특허 공개번호

20050192212; 미국 특허 공개번호 20050080005; 미국 특허 공개번호 20050062522; 미국 특허 공개번호 20050020503; 미국 특허 공개번호 20040229818; 미국 특허 공개번호 20040229817; 미국 특허 공개번호 20040224900; 미국 특허 공개번호 20040186125; 미국 특허 공개번호 20040171626; 미국 특허 공개번호 20040110747; 미국 특허 공개번호 20040072788; 미국 특허 공개번호 20040067901; 미국 특허 공개번호 20030191067; 미국 특허 공개번호 20030187018; 미국 특허 공개번호 20030186895; 미국 특허 공개번호 20030181363; 미국 특허 공개번호 20020147160; 미국 특허 공개번호 20040082574; 미국 특허 공개번호 20050192212; 미국 특허 공개번호 20050187192; 미국 특허 공개번호 20050187165; 미국 특허 공개번호 20050049220; 및 미국 특허 공개번호 US2005/0222236 이 있다.

[0083] 또 다른 약제에는 Albuferon™ (알부민-인터페론 알파), Human Genome Sciences 사 제품; PEG-INTRON® (peg인 터페론 알파-2b, Schering Corporation 사 제품, Kenilworth, NJ); INTRON-A®, (VIRAFERON®, 인터페론 알파-2b, Schering Corporation 사 제품, Kenilworth, NJ); 리바비린(1-베타-D-리보푸라노실-1H-1,2,4-트리아졸-3-카르복사미드, ICN Pharmaceuticals, Inc. 사 제품, Costa Mesa, CA; 머크 인텍스 12판, 엔트리 8365에 설명되어 있음); REBETROL® (Schering Corporation, Kenilworth, NJ); COPEGUS®(Hoffmann-La Roche, Nutley, NJ); PEGASYS®(peg인 터페론 알파-2a, Hoffmann-La Roche 사 제품, Nutley, NJ); ROFERON®(재조합 인터페론 알파-2a, Hoffmann-La Roche 사 제품, Nutley, NJ); BEREFOR®(인터페론 알파 2, Boehringer Ingelheim Pharmaceutical, Inc. 사 제품, Ridgefield, CT); SUMIFERON® (천연 알파 인터페론의 정제된 배합물, 예컨대 Sumiferon, Sumitomo사 제품, 일본); WELLFERON®(인터페론 알파 n1, Glaxo Wellcome Ltd. 사 제품, 영국); ALFERON®(천연 알파 인터페론 혼합물, Interferon Sciences 제조, Purdue Frederick Co. 시판 제품, CT); α-인터페론; 천연 알파 인터페론 2a; 천연 알파 인터페론 2b; 폐길화된 알파 인터페론 2a 또는 2b; 콘센서스 알파 인터페론(Amgen, Inc., Newbury Park, CA); REBETRON®(Schering Plough, 인터페론 2B + 리바비린); 폐길화된 인터페론 알파(Reddy, K.R. et al. "Efficacy and Safety of Pegylated (40-kd) Interferon alpha-2a Compared with Interferon alpha-2a in Noncirrhotic Patients with Chronic Hepatitis C (Hepatology, 33, pp. 433-438 (2001)); 콘센서스 인터페론(INFERGEN®)(Kao, J.H., et al., "Efficacy of Consensus Interferon in the Treatment of Chronic Hepatitis" J. Gastroenterol. Hepatol. 15, pp. 1418-1423 (2000); 림프아세포성 또는 "천연" 인터페론; 인터페론 타우(Clayette, P. et al., "IFN-tau, A New Interferon Type I with Antiretroviral activity" Pathol. Biol. (Paris) 47, pp. 553-559 (1999)); 인터루킨-2(Davis, G.L. et al., "Future Options for the Management of Hepatitis C." Seminars in Liver Disease, 19, pp. 103-112 (1999)); 인터루킨-6 (Davis et al. . "Future Options for the Management of Hepatitis C." Seminars in Liver Disease, 19, pp. 103-112 (1999)); 인터루킨-12(Davis, G.L. et al., "Future Options for the Management of Hepatitis C." Seminars in Liver Disease, 19, pp. 103-112 (1999)); 및 타입 1 헬퍼 T 세포 반응의 발생을 증강시키는 화합물(Davis et al., "Future Options for the Management of Hepatitis C." Seminars in Liver Disease, 19, pp. 103-112 (1999))이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 또한, 세포에서 인터페론의 합성을 자극하는 화합물(Tazulakhova, E.B. et al., "Russian Experience in Screening, analysis, and Clinical Application of Novel Interferon Inducers" J. Interferon Cytokine Res., 21 pp. 65-73)도 포함되며, 그 예로는 이본쇄 RNA 단독물 또는 토브라마이신과의 조합물, 및 이미퀴모드((Imiquimod)(3M Pharmaceuticals; Sauder, D.N. "Immunomodulatory and Pharmacologic Properties of Imiquimod" J. Am. Acad. Dermatol., 43 pp. S6-11 (2000))가 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다(또한, WO 02/18369, 272쪽 15줄 내지 273쪽 8줄 참조, 이 명세서도 본원에 특별히 참고인용되고 있다).

[0084] 당업자가 이해하고 있듯이, VX-950은 경구 투여하는 것이 바람직하다. 인터페론은 경구 투여 형태가 개발 중에 있을지라도 통상 경구 투여하지 않는다. 그럼에도 불구하고, 본 발명의 방법이나 배합물은 임의의 특정 투약 형태 또는 계획법으로 제한되지 않는다. 즉, 본 발명에 따른 배합물의 각 성분은 별도로, 함께 또는 이의 임의의 배합물로 투여할 수 있다. 당업자라면 이해하고 있듯이, 인터페론의 투약량은 통상 IU로 측정된다(예컨대 약 400만 IU 내지 약 1200만 IU). 또한, 인터페론은 마이크로그램 단위로 투여될 수 있다. 예를 들어, Peg-인트론의 표준 투여량은 1.0 내지 1.5 μ g/kg/wk이고, Pegasys는 180 μ g/wk이다.

[0085] 본 발명과 관련하여 사용되는 시토크롬 P450 모노옥시게나제("CYP") 억제제는 VX-950의 대사를 억제하는 것으로 생각된다. 따라서, 시토크롬 P450 모노옥시게나제 억제제는 VX-950의 대사를 억제하는 유효량으로 존재할 수 있다. 즉, CYP 억제제는 CYP 억제제의 부재 하에서의 VX-950과 비교했을 때 VX-950의 생체이용률 또는 VX-950에 대한 노출이 증가될 정도의 양으로 투여한다. CYP 억제제에는 리토나비르(ritonavir)(WO 94/14436), 케토코나졸(ketoconazole), 트롤리안도마이신(troleandomycin), 4-메틸 피라졸(4-methyl pyrazole), 사이클로스포린(cyclosporin), 클로메티아졸(clomethiazole), 시메티딘(cimetidine), 이트라코나졸(itraconazole), 플루코나

졸(fluconazole), 미코나졸(miconazole), 플루복사민(fluvoxamine), 플루옥세틴(fluoxetine), 네파조돈(nefazodone), 세르트랄린(sertraline), 인디나비르(indinavir), 넬피나비르(nelfinavir), 암프레나비르(amprenavir), 포삼프레나비르(fosamprenavir), 샤퀴나비르(saquinavir), 로피나비르(lopinavir), 텔라비르딘(delavirdine), 에리스로마이신(erythromycin), VX-944, 및 VX-497이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. 바람직한 CYP 억제제는 리토나비르, 케토코나졸, 트롤리안도마이신, 4-메틸 피라졸, 사이클로스포린 및 클로메티아졸이다.

- [0086] 시토크롬 P50 모노옥시게나제 활성을 억제하는 화합물의 활성을 측정하는 방법은 공지되어 있다(US 6,037,157 및 Yun, et al . Drug Metabolism & Disposition, vol. 21, pp. 403-407 (1993) 참조). 또한, 피검체에게 VX-950 및 CYP 억제제의 공동투여에 대한 영향을 측정하는 방법도 공지되어 있다(US2004/0028755). 이러한 임의의 방법들은 배합물의 약역학적 영향을 측정하기 위해 본 발명에 사용될 수 있다.
- [0087] 본 발명의 일 양태는 CYP3A4 억제제와 VX-950를 투여하는 방법을 제공한다.
- [0088] 이 방법은 a) VX-950 및 다른 제제의 배합물; 또는 b) VX-950의 2개 이상의 투약 형태의 투여 또는 공동투여를 수반할 수 있다. 공동투여는 각 억제제를 동일한 투약 형태 또는 다른 투약 형태로 투여하는 것을 포함한다. 다른 투약 형태로 투여할 때, 억제제는 시간 차를 두고, 예컨대 거의 동시에 또는 다른 투약 형태를 투여할 즈음에 임의의 시간에 투여할 수 있다. 별도의 투약 형태는 임의의 순서로 투여할 수 있다. 즉, 임의의 투약 형태는 다른 투약 형태 전에, 다른 투약 형태와 함께 또는 다른 투약 형태 투여 후에 투여할 수 있다.
- [0089] VX-950 및 임의의 추가 제제는 별도의 투약 형태로 제형화할 수 있다. 또는, 환자에게 투여하는 투약 형태의 횟수를 줄이기 위하여, VX-950 및 임의의 추가 제제는 임의의 배합물로 함께 제형화할 수 있다. 임의의 별도의 투약 형태는 동시에 또는 다른 시기에 투여할 수 있다. 투약 형태는 생물학적 효과가 유리한 상태의 시간 이내에 투여해야 하는 것으로 이해되어야 한다.
- [0090] 본 발명의 계획법 및 투약 형태에 따르면, VX-950은 시료 또는 환자 중의 바이러스 부하량을 감소시키기에 효과적인 양(또는 본 발명의 방법을 수행하기에 효과적인 양으로)으로 존재하며, 이 때 바이러스는 바이러스 생활주기에 필요한 NS3/4A 세린 프로테아제를 암호화한다. 또는, 본 발명의 조성물은 본 명세서에 기술된 추가 제제를 함유한다. 각 성분은 각각의 조성물, 배합 조성물 또는 단독 조성물로 존재할 수 있다.
- [0091] 본 발명의 조성물에 화합물의 약제학적으로 허용되는 염이 이용된다면, 그러한 염은 무기 또는 유기 산 및 염기로부터 유도되는 것이 바람직하다. 이러한 산 염 중에는 다음과 같은 것이 포함된다: 아세테이트, 아디페이트, 알기네이트, 아스파르테이트, 벤조에이트, 벤젠 살포네이트, 바이설페이트, 부티레이트, 시트레이트, 캄포레이트, 캄포 살포네이트, 사이클로펜탄-프로피오네이트, 디글루코네이트, 도데실살포네이트, 에탄살포네이트, 푸마레이트, 글루코헵타노에이트, 글리세로포스페이트, 헤미설페이트, 헵타노에이트, 헥사노에이트, 하이드로클로라이드, 하이드로브로마이드, 하이드로요오다이드, 2-하이드록시에탄살포네이트, 락테이트, 말레이트, 메탄살포네이트, 2-나프탈렌살포네이트, 니코티네이트, 옥살레이트, 파모에이트, 페티네이트, 퍼설페이트, 3-페닐-프로피오네이트, 피크레이트, 피발레이트, 프로피오네이트, 석시네이트, 타르트레이트, 티오시아네이트, 토실레이트 및 운데카노에이트. 염기 염에는 암모늄염, 알칼리 금속염, 예컨대 나트륨 및 칼륨염, 알칼리 토금속염, 예컨대 칼슘 및 마그네슘염, 유기 염기와의 염, 예컨대 디사이클로헥실아민염, N-메틸-D-글루카민, 및 아미노산, 예컨대 아르기닌, 리신 등과의 염이 있다.
- [0092] 또한, 염기성 질소 함유 기는 저급 알킬 할라이드, 예컨대 메틸, 에틸, 프로필 및 부틸의 클로라이드, 브로마이드 및 요오다이드; 디알킬 살포네이트, 예컨대 디메틸, 디에틸, 디부틸 및 디아밀 살포네이트; 장쇄 할라이드, 예컨대 데실, 라우릴, 미리스틸 및 스테아릴의 클로라이드, 브로마이드 및 요오다이드; 아르알킬 할라이드, 예컨대 벤질 및 펜에틸 브로마이드 등과 같은 제제에 의해 4급화될 수 있다. 이로써, 수용성 또는 지용성 또는 분산성 산물이 수득된다.
- [0093] 본 발명의 조성물 및 방법에 이용되는 화합물은 또한 선택적인 생물학적 성질을 증강시키기 위해 적당한 작용기를 부가하여 변형시킬 수 있다. 이러한 변형은 당업계에 공지되어 있고, 예컨대 제공된 생물계(예, 혈액, 림프계, 중추신경계)로의 생물학적 침투를 증가시키는 것, 경구 생체이용률을 증가시키는 것, 용해성을 증가시켜 주사 투여할 수 있게 하는 것, 대사 변경시키는 것 및 배출률 변경시키는 것이 있다.
- [0094] 이러한 조성물에 사용될 수 있는 약제학적으로 허용되는 담체에는 이온교환제, 알루미나, 알루미늄 스테아레이트, 레시틴, 혈청 단백질, 예컨대 사람 혈청 알부민, 완충액 물질, 예컨대 포스페이트, 글리신, 소르브산, 칼륨 소르베이트, 포화 식물성 지방산의 부분 글리세라이드 혼합물, 물, 염 또는 전해질, 예컨대 프로타민 살포네이트,

인산수소이나트륨, 인산수소칼륨, 염화나트륨, 아연염, 콜로이드성 실리카, 마그네슘 트리실리케이트, 폴리비닐 피롤리돈, 셀룰로스계 물질, 폴리에틸렌 글리콜, 나트륨 카르복시메틸셀룰로스, 폴리아크릴레이트, 왁스, 폴리 에틸렌-폴리옥시프로필렌-블록 중합체, 폴리에틸렌 글리콜 및 양모지가 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다.

- [0095] 바람직한 형태에 따르면, 본 발명의 조성물은 포유동물, 특히 사람에게 약제학적 투여용으로 제형화한다.
- [0096] 이러한 본 발명의 약제학적 조성물(및 본 발명의 방법, 배합물, 키트 및 팩에 사용하기 위한 조성물)은 경구, 비경구, 설하, 흡입 분무, 국소, 직장, 비축, 협착, 질내 또는 이식된 저장소를 통해 투여될 수 있다. 여기에서 사용된 "비경구"란 용어에는 피하, 정맥내, 근육내, 동맥내, 유흘막내, 복장내, 수막공간내, 간내, 환부내 및 두개내 주사 또는 주입 기술이 포함된다. 이 조성물은 경구 또는 정맥내로 투여되는 것이 바람직하다. 더욱 바람직하게는 조성물이 경구 투여되는 것이다.
- [0097] 본 발명에 따른 조성물의 멸균 주사성 형태는 수성 또는 유성 혼탁액일 수 있다. 이러한 혼탁액은 적당한 분산제, 습윤화제 및 혼탁화제를 이용하여 당업계에 공지된 기술에 따라 제형화할 수 있다. 멸균 주사성 제제는 또한 비독성 비경구적으로 허용되는 희석제 또는 용매 중의 멸균 주사성 용액 또는 혼탁액일 수 있으며, 그 예로는 1,3-부탄디올 중의 용액이 있다. 이용될 수 있는 허용성 비히클 및 용매 중에는 물, 릴거액 및 등장성 염화나트륨 용액이 있다. 또한, 멸균한 고정유는 통상적으로 용매 또는 혼탁화 매질로서 이용된다. 이러한 목적을 위해 합성 모노글리세라이드 및 디글리세라이드를 비롯한 임의의 비자극성 고정유가 이용될 수 있다. 올레산과 같은 지방산 및 이의 글리세라이드 유도체는 올리브유 또는 피마자유와 같은 약제학적으로 허용되는 천연오일과 마찬가지로 주사제의 제조에 유용하다. 이러한 오일 용액 또는 혼탁액은 장쇄 알콜 희석제 또는 분산제, 예컨대 카르복시메틸 셀룰로스 또는 유탕액 및 혼탁액을 비롯한 약제학적으로 허용되는 투약 형태의 제제에 통상 사용되는 유사 분산화제도 함유할 수 있다. 약제학적으로 허용되는 고체, 액체 또는 다른 투약 형태의 제조에 일반적으로 사용되는 다른 통용 계면활성제, 예컨대 Tweens, Spans 및 다른 유화제 또는 생체이용률 증강제도 제형화 목적에 사용될 수 있다.
- [0098] VX-950 및 추가 제제를 함유하는 본 발명의 조성물에서, VX-950 및 추가 제제는 단독요법 계획에서 보통 투여되는 투약량의 약 10 내지 100% 사이, 더욱 바람직하게는 약 10 내지 약 80% 사이의 투약 수준으로 존재해야 한다.
- [0099] 본 발명의 약제학적 조성물은 임의의 경구적으로 허용되는 투약 형태, 예컨대 캡슐, 정제, 알약, 분말, 과립, 수성 혼탁액 또는 용액 등(이에 국한되지 않는다)으로 경구 투여할 수 있다. 경구용 정제인 경우에 통용되는 담체에는 락토스 및 옥수수전분이 있다. 유흘제, 예컨대 마그네슘 스테아레이트도 일반적으로 첨가된다. 캡슐 형태의 경구 투여용인 경우, 유용한 희석제에는 락토스 및 옥수수전분 분말이 있다. 경구용으로 수성 혼탁액이 필요한 경우에, 활성 성분은 유화제 및 혼탁화제와 배합된다. 필요한 경우에는 특정 감미제, 향미제 또는 착색제도 첨가될 수 있다. 허용되는 액체 투약 형태에는 유탕액, 용액, 혼탁액, 시럽 및 엘릭시르가 있다.
- [0100] 또는, 본 발명의 약제학적 조성물은 직장 투여용 좌약 형태로 투여될 수 있다. 이러한 좌약은 실온에서 고체이지만 직장 온도에서 액체이어서 직장에서 용융하여 약물을 방출하는 제제를 혼합하여 제조할 수 있다. 이러한 물질에는 코코아버터, 밀랍 및 폴리에틸렌 글리콜이 있다.
- [0101] 본 발명의 약제학적 조성물은 국소, 특히 치료 표적이 국소 투여로 접근하기 쉬운 부위 또는 기관, 예컨대 눈, 피부 또는 대장 관의 질환 등인 경우에 국소 투여할 수도 있다. 적당한 국소 제형은 이러한 각 부위 또는 기관용으로 쉽게 제조된다.
- [0102] 당업계에 잘 알려져 있듯이, 약제학적 조성물은 또한 리포좀 형태로 투여될 수도 있다.
- [0103] 본 출원인은 VX-950이 경구적으로 생체이용될 수 있음을 증명했다. 따라서, 본 발명의 바람직한 약제학적 조성물은 경구 투여용으로 제형화된다.
- [0104] CYP 억제제의 경우, 약 0.001 내지 약 200mg/kg체중/일 사이의 투약 수준이 전형적일 수 있다. 더욱 전형적인 투약 수준은 약 0.1 내지 약 50mg/kg 또는 약 1.1 내지 약 25mg/kg/일이다.
- [0105] 리토나비르의 바람직한 투약 형태에 대해서는 미국 특허 6,037,157 및 여기에 인용된 문헌: 미국 특허 5,484,801, 미국 특허 출원 08/402,690, 및 국제출원 WO 95/07696 및 WO 95/09614를 참조한다.
- [0106] 본 발명과 관련하여, 투여는 만성 또는 급성 요법으로서 사용될 수 있다. 단일 투약 형태를 생산하기 위해 담체 물질과 배합될 수 있는 활성 성분의 양은 치료받는 숙주 및 특정 투여 방식에 따라 달라질 것이다. 전형적인 제제는 약 5% 내지 약 95% 활성 화합물(w/w)을 함유한다. 바람직하게는, 약 20% 내지 약 80% 활성 화합물을 함유

한다.

- [0107] 환자 상태가 호전되면, 필요하다면 본 발명의 화합물, 조성물 또는 배합물의 유지 투여량이 투여될 수 있다. 그 다음, 투약량이나 투여 횟수, 또는 둘 모두는 중후군의 함수로서 중후군이 바람직한 수준까지 완화되었을 때 호전된 상태가 유지되는 수준까지 감소될 수 있고, 치료는 중단되어야 한다. 하지만, 환자는 질환 증상의 임의의 재발 시 장기적 기준으로 간헐 치료를 필요로 할 수 있다.
- [0108] 또한, 임의의 특정 환자에 대한 특정 투약량 및 치료 계획은 다양한 요인, 예컨대 이용된 특정 화합물의 화합물, 연령, 체중, 전반적인 건강, 성별, 식이, 투여 시기, 배출률, 약물 배합, 담당의의 판단 및 치료받는 특정 질병의 중증도, 이전 치료 이력, 동반이환 또는 수반 약물처치, 기본 바이러스 부하량, 인종, 질병 지속기간, 간 기능 상태 및 간 섬유증/간경변 정도 및 치료 목표(이식체당 혈행 바이러스 제거 또는 바이러스 근절) 등에 따라 달라지는 것으로 이해되어야 한다. 또한, 활성 성분의 양은 기술된 특정 화합물 및 조성물에서 추가 항바이러스제의 존재 또는 부재 및 성질에 따라 달라질 수 있다.
- [0109] 다른 양태에 따르면, 본 발명은 바이러스의 생활 주기에 필수적인 바이러스 암호화 NS3/4A 세린 프로테아제를 특징으로 하는 바이러스로 감염된 환자에게 본 발명의 약제학적으로 허용되는 조성물을 투여하여 상기 환자를 치료하는 방법을 제공한다. 이러한 본 발명의 방법은 HCV 감염을 앓고 있는 환자를 치료하는데 사용되는 것이 바람직하다. 이러한 치료는 바이러스 감염을 완전히 근절시키거나 그 중증도를 감소시킬 수 있다. 환자는 포유동물인 것이 바람직하다. 더욱 바람직하게는 환자는 사람인 것이다.
- [0110] 여기서 투약량은 생체내 사용하기에 바람직하다. 하지만, 이 투약량은 모든 목적에 이러한 양의 VX-950을 사용해야 하는 한정으로서 간주되어서는 아니 된다. 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 본 발명의 화합물을 함유하는 약제학적으로 허용되는 조성물과 환자에게 투여하고자 한 생물학적 물질을 접촉시키는 단계를 포함하여, 상기 생물학적 물질을 전처리하는 방법을 제공한다. 이러한 생물학적 물질에는 혈액, 이의 성분, 예컨대 혈장, 혈소판, 혈액 세포의 아집단 등; 신장, 간장, 심장, 폐 등과 같은 기관; 정자 및 난자; 골수 및 이의 구성성분, 및 환자에게 주입해야 하는 다른 유체, 예컨대 식염수, 텍스트로스 등이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다.
- [0111] 또한, 본 발명은 VX-950 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염과 약제학적으로 허용되는 담체, 보조제 및 비히클을 함유하는 조성물을 제조하는 방법으로서, VX-950 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염과 약제학적으로 허용되는 담체, 보조제 또는 비히클을 배합하는 단계를 포함하고, 여기서 조성물 중의 VX-950의 투약량이 본 발명의 임의의 양태에 따른 양인 방법을 제공한다. 다른 양태에 따르면, 본 발명은 조성물이 본 명세서에 기술된 바와 같은 하나 이상의 추가 제제를 함유하는 방법을 제공한다.
- [0112] 또한, 본 발명은 VX-950 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 본 명세서에 개시된 투약량으로 함유하는 치료 계획법을 제공한다. 본 발명의 대안적 양태에 따르면, 이러한 치료 계획법은 추가로 본 명세서에 기술된 바와 같은 하나 이상의 추가 제제를 함유한다.
- [0113] 약제학적 조성물은 또한 단일 패키지에 치료 전체 기간의 약물을 함유하는 "환자 팩(patient pack)", 보통 블리스터 팩으로 환자에게 처방될 수 있다. 환자 팩은 약사가 환자의 약물 공급물을 벌크 공급물로부터 나누는 전통적인 처방에 비해 장점, 전통적인 처방에서는 보통 지키지 않는, 환자 팩에 담긴 약제사용설명서를 환자가 항상 접한다는 장점이 있다. 약제사용설명서의 첨부는 의사의 지시에 따라 환자 순응성을 높이는 것으로 밝혀져 있다.
- [0114] 환자에게 본 발명의 정확한 사용을 지시하는 약제사용설명서가 담긴 단독 환자 팩 또는 각 제형의 환자 팩을 이용한 본 발명의 배합물의 투여는 본 발명의 바람직한 또 다른 특징으로 이해될 것이다.
- [0115] 본 발명의 또 다른 관점은, 적어도 VX-950(본 발명에 따른 투약량으로)과 본 발명의 배합물 사용에 관한 지시가 담긴 정보설명서를 함유한 팩이다. 본 발명의 임의의 조성물, 투약 형태, 치료 계획법 또는 다른 양태는 약제학적 팩으로 제공될 수 있다. 대안적인 본 발명의 양태에 따르면, 약제학적 팩은 추가로 본 명세서에 기술된 바와 같은 하나 이상의 추가 제제를 함유한다. 추가 제제 또는 제제들은 동일한 팩 또는 별도의 팩에 제공될 수 있다.
- [0116] 다른 관점으로서, 본 발명은 각 약물 성분의 단독 또는 복수의 약학적 제형; 이 약학적 제형을 보관 중과 투여 전에 담는 용기; 및 HCV 감염의 치료 또는 예방에 효과적인 방식으로 약물 투여를 수행하도록 하는 지침서를 포함하는, HCV 감염의 치료 또는 예방에 사용(또는 본 발명의 다른 방법에 사용)하기 위한 환자용 패키지 키트를 수반한다.

- [0117] 따라서, 본 발명은 VX-950의 투여량(및 경우에 따라 추가 제제)를 동시 또는 연속 투여하기 위한 키트를 제공한다. 일반적으로, 이러한 키트는 예컨대 각 화합물과 선택적 추가 제제를 약제학적으로 허용되는 담체에 함유하는 조성물(및 하나 또는 복수의 약학적 제형) 및 동시 또는 연속 투여에 대한 서면 지침서를 포함할 것이다.
- [0118] 다른 양태에 따르면, 자가 투여를 위한 하나 이상의 투약 형태; 보관 및 사용 전 동안 투약 형태를 담기 위한, 바람직하게는 밀봉된, 용기 수단; 및 약물 투여 수행을 위한 환자용 지침서를 함유한 패키지 키트가 제공된다. 지침서는 일반적으로 약제사용설명서, 라벨 및/또는 키트의 다른 구성성분에 대한 서면 지침서이며, 투약 형태는 본 명세서에 기술된 바와 같은 것이다. 각 투약 형태는 각 셀(cell)이나 버블(bubble)에 각 투약 형태를 담고 있는 금속박-플라스틱 적층 시트에서와 같이 각각 담거나, 또는 플라스틱 병에서와 같은 단독 용기에 투약 형태를 담고 있을 수 있다. 본 키트는 또한 보통 각 키트 구성성분, 즉 투약 형태, 용기 수단 및 사용에 관한 서면 지침서를 패키지화하는 수단을 포함하기도 한다. 이러한 패키지화 수단은 판지 또는 종이 박스, 플라스틱 또는 금속박 파우치 등의 형태일 수 있다.
- [0119] 본 발명에 따른 키트는 임의의 조성물, 투약 형태, 치료 계획법 또는 약학적 팩과 같은 본 발명의 임의의 관점을 구현할 수 있다.
- [0120] 본 발명에 따른 팩 및 키트는 경우에 따라 복수의 조성물 또는 투약 형태를 포함한다. 따라서, 본 발명에는 하나의 조성물 또는 2개 이상의 조성물을 함유하는 팩 또는 키트가 포함되어야 한다.
- [0121] 이하 특정 양태의 예가 기술되고 설명되지만, 본 발명의 화합물은 당업자가 일반적으로 이용할 수 있는 적당한 출발 물질을 이용하여 앞에서 일반적으로 설명한 방법에 따라 제조할 수 있는 것으로 이해되어야 할 것이다.
- [0122] 모든 인용 문헌은 본원에 참고인용된 것이다.
- [0123] 본 발명을 더욱 상세히 설명하기 위하여, 다음과 같은 제조예 및 검사예를 제시한다. 이러한 실시예는 단지 예시하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위를 어떠한 방식으로든지 제한하는 것으로 간주되어서는 아니 된다.

[0124] 실시예 1

[0125] HCV 레플리콘 세포 분석 프로토콜

- [0126] C형 간염 바이러스(HCV) 레플리콘을 함유하는 세포는 적당한 보충물과 함께 10% 태아 소 혈청(FBS), G418 0.25mg/ml를 함유하는 DMEM(배지 A)에서 유지시켰다.
- [0127] 1일째, 레플리콘 세포 단층을 트립신:EDTA 혼합물로 처리하고, 분리한 뒤, 배지 A를 최종 농도가 1ml 위트(wit)당 100,000 세포가 되도록 희석했다. 100 μ l 중의 10,000개 세포를 96웰 조직배양판의 각 웰에 분주하고 37°C 조직배양기에서 하룻밤동안 배양했다.
- [0128] 2일째, 화합물(100% DMSO 중에)은 적당한 보충물과 함께 2% FBS, 0.5% DMSO를 함유하는 DMEM으로 연속 희석했다 (배지 B). DMSO의 최종 농도는 전 희석물을 통해 0.5%로 유지시켰다.
- [0129] 레플리콘 세포 단층 위의 배지를 제거하고, 그 다음 다양한 농도의 화합물을 함유하는 배지 B를 첨가했다. 화합물이 없는 배지 B도 화합물 무첨가 대조군으로서 다른 웰에 첨가했다.
- [0130] 세포는 배지 B 중의 화합물 또는 0.5% DMSO와 함께 37°C 조직배양기에서 48시간 동안 항온배양했다. 48시간 배양 후, 배지를 제거하고, 레플리콘 세포 단층을 PBS로 1회 세척하고, RNA 추출 전까지 -80°C에 보관했다.
- [0131] 처리된 레플리콘 세포 단층을 보유한 배양판을 해동하고, 일정량의 다른 RNA 바이러스, 예컨대 소 바이러스성 설사바이러스(BVDV)를 각 웰의 셀에 첨가했다. RNA 분해를 피하기 위해 셀에 즉시 RNA 추출 시약(예, RNeasy 키트 유래 시약)을 첨가했다. 총 RNA는 추출율 및 일관성 향상을 위한 변형과 제조자의 지시에 따라 추출했다. 마지막으로, HCV 레플리콘 RNA를 포함한 총 세포 RNA를 용출시키고, 추가 프로세싱시까지 -80°C에서 보관했다.
- [0132] Taqman 실시간 RT-PCR 정량분석은 2세트의 특정 프라이머 및 프로브와 함께 구성했다. 하나는 HCV용이고 다른 하나는 BVDV용이다. 처리된 HCV 레플리콘 세포 유래의 총 RNA 추출물을 동일한 PCR 웰에서 HCV 및 BVDV RNA를 함께 정량분석하기 위한 PCR 반응에 첨가했다. 각 웰의 BVDV RNA 수준에 기초하여 실험 실패를 알리고 배제시켰다. 각 웰의 HCV RNA의 수준은 같은 PCR 판에서의 표준 곡선 실험에 따라 계산했다. 처리 화합물에 의한 HCV RNA 수준의 억제 또는 감소 백분율은 DMSO 또는 화합물 무첨가 대조군을 억제율 0%로 하여 계산했다. IC50(HCV RNA 수준의 50% 억제가 관찰되는 농도)은 임의의 소정 화합물의 적정 곡선으로부터 계산했다.

- [0133] VX-950은 레플리콘 분석에서 상당한 활성을 입증했다. VX-950은 IC₅₀이 240ng/ml이고 IC₉₀이 476ng/ml인 것으로 관찰되었다.
- [0134] 실시예 2
- [0135] HCV Ki 분석 프로토콜
- [0136] **5AB 기질 및 산물의 분리를 위한 미세관 HPLC 방법**
- [0137] 기질:
- [0138] NH₂-Glu-Asp-Val-Val-(알파)Abu-Cys-Ser-Met-Ser-Tyr-COOH
- [0139] 20mM 5AB(또는 선택 농도)의 스톡 용액은 0.2M DTT 함유 DMSO로 제조했다. 이것을 일정량씩 -20°C에서 보관했다.
- [0140] 완충액: 50mM HEPES, pH 7.8; 20% 글리세롤; 100mM NaCl
- [0141] 총 분석 부피는 100μl였다.
- | | X1(μl) | 분석 중의 농도 |
|-----------------|--------|----------|
| 완충액 | 86.5 | 상기 참조 |
| 5mM KK4A | 0.5 | 25 μM |
| 1M DTT | 0.5 | 5mM |
| DMSO 또는 억제제 | 2.5 | 2.5% v/v |
| 50 μM tNS3 | 0.05 | 25nM |
| 250 μM 5AB(개시제) | 20 | 25 μM |
- [0142]
- [0143] 완충액, KK4A, DTT 및 tNS3을 배합하고, 96웰 평판의 웰에 각각 78μl씩 분배했다. 이것을 30°C에서 약 5 내지 10분 동안 항온배양했다.
- [0144] 적당한 농도의 검사 화합물 2.5μl를 DMSO(대조군에서는 오로지 DMSO만)에 용해하고, 각 웰에 첨가했다. 이것을 실온에서 15분 동안 항온배양했다.
- [0145] 250 μM 5AB 기질(25 μM 농도는 상기 5AB의 Km과 동일하거나 약간 낮다) 20μl를 첨가하여 반응을 개시했다.
- [0146] 30°C에서 20분 동안 항온배양했다.
- [0147] 10% TFA 25μl를 첨가하여 반응을 종결시켰다.
- [0148] 120μl 일정량을 HPLC 바이엘에 옮겨 담았다.
- [0149] 다음과 같은 방법으로 기질 유래의 SMSY 산물 및 KK4A를 분리했다:
- [0150] 미세관 분리법:
- [0151] 기구: Agilent 1100
- [0152] 탈기장치 G1322A
- [0153] 이진수 풋프 G1312A
- [0154] 자동시료채취기 G1313A
- [0155] 컬럼 정온 챔버 G1316A
- [0156] 다이오드 어레이 검출기 G1315A
- [0157] 컬럼:
- [0158] Phenomenex Jupiter; 5 미크론 C18; 300 옹스트롬; 150x2 mm; P/O 00F-4053-B0
- [0159] 컬럼 정온기: 40°C
- [0160] 주입량: 100μl
- [0161] 용매 A = HPLC 등급 물 + 0.1% TFA

[0162] 용매 B = HPLC 등급 아세토니트릴 + 0.1% TFA

| 시간(분) | B% | 유속(ml/분) | 최대압 |
|-------|-----|----------|-----|
| 0 | 5 | 0.2 | 400 |
| 12 | 60 | 0.2 | 400 |
| 13 | 100 | 0.2 | 400 |
| 16 | 100 | 0.2 | 400 |
| 17 | 5 | 0.2 | 400 |

[0163]

[0164] 정지 시간: 17분

[0165] 실험진행후 시간: 10분.

[0166] 실시예 3

[0167] VX-950은 무작위, 이중맹검, 위약 조절된 단일 투여량 단계적 상승 연구로 조사했다. 25명의 건강한 남성 지원자를 등록받았다. 각 피검체에게 VX-950 점증 투여량 수준의 3회 투여량을 적어도 7일 간격으로 투여하는 VX-950 복수 단일 투여량 및 위약 1회 투여량을 투여했다.

[0168] 25mg 내지 1250mg의 투여량을 평가했다. 투여량 단계적 상승 계획은 낮은 투여량 범위에서는 공격적이고 높은 투여량 범위에서는 보존적인, 투여량 2배화 및 변형 피보나치(Fibonacci)의 복합법을 사용했다.

[0169] VX-950은 모든 투여량 수준에서 상당히 허용적이었고, 연구 동안 어떠한 심각한 부작용도 보고되지 않았다. 투여량 수준의 증가에 따라 부작용이 증가하는 것으로 나타나지도 않았다.

[0170] 약역학적 분석은 통계적 모멘트 방법을 이용하여 수행했다. 도 1a 및 도 1b는 평균 농도값 - 시간 프로필을 예증한 것이다. 선택한 유도된 약역학적 파라미터는 도 2a 내지 2d에 제시했다. 약역학적 분석은 VX-950이 t_{max} 평균값이 3시간일 때 흡수되었음을 보여주었다. VX-950 2% 미만은 소변에서 변동이 없이 제거되었는데, 이는 약물이 주로 대사 경로를 통해 제거되었음을 시사한다.

[0171] 실시예 4

[0172] 감염성 바이러스 분석

[0173] VX-950은 감염성 바이러스 분석에서 196ng/ml의 IC₅₀을 보여주었다.

[0174] 실시예 5

[0175] VX-950은 건강한 피검체 24명과 C형 간염 양성 피검체 34명에서 무작위, 위약 조절된 복수 투여량, 이중맹검, 투여량 단계적 상승 연구로 조사했다.

[0176] 건강한 피검체는 각각 8명씩 3개의 패널로 나누었다. 각 패널마다, 6명의 피검체에게는 VX-950을 투여하고, 2명에게는 위약을 투여했다. 건강한 피검체에게는 VX-950을 450mg, 750mg 또는 1250mg q8h으로 연속 5일 동안 투여했다. 건강한 피검체의 연령은 18세 내지 65세(18세와 65세를 포함하여)이고, B형 간염, C형 간염 및 HIV 음성이었다. 남성의 체질량 지수는 18.5 내지 29.0kg/m²(18.5 및 29.0kg/m²을 포함하여)이었다. 여성의 체질량 지수는 18.5 내지 32.5kg/m²(18.5 및 32.5kg/m²을 포함하여)이었다.

[0177] C형 간염(유전자형 1) 양성 피검체는 각각 12명씩 3개의 패널로 나누었다. 각 패널마다 10명에게는 VX-950을 투여하고 2명에게는 위약을 투여했으며; 750mg q8h 그룹에게는 투여하기 전에 2명을 빼서, 8명에게 VX-950을 투여하고 2명에게 위약을 투여했다. HCV 양성 피검체에게는 VX-950을 450mg 또는 750mg q8h, 또는 1250mg q12h를 연속 14일 동안 투여했다.

[0178] VX-950은 모든 투여량 수준에서 상당히 허용적이었고, 연구 동안에 어떠한 심각한 부작용도 보고된 바 없었으며; 약하거나 보통 수준의 부작용은 보고되었다. 모든 피검체들이 연구를 마쳤다.

[0179] HCV 양성 피검체 중에 위약, 450mg q8h, 750mg q8h 및 1250mg q12h 그룹에서 다음과 같은 비율의 피검체는 각각 치료-투약을 받은 적이 없었다: 33.2%, 10%, 12.5% 및 30%.

[0180] HCV 양성 피검체는 HCV RNA 수준의 기준선으로의 복귀를 모니터하기 위하여 치료후 검사했다.

표 1

피검체 기본적 특징

| | 위약 (n=6) | VX-950 | | |
|-------------------------------------|---------------|-------------------------|------------------------|---------------------------|
| | | 450 mg q8h (n=10) | 750 mg q8h (n=8) | 1250 mg q12h (n=10) |
| 성별, n (%) | | | | |
| 남성 | 3 (50.0) | 8 (80.0) | 3 (37.5) | 8 (80.0) |
| 여성 | 3 (50.0) | 2 (20.0) | 5 (62.5) | 2 (20.0) |
| 인종, n (%) | | | | |
| 백인 | 6 (100) | 10 (100) | 8 (100) | 10 (100) |
| 연령, | | | | |
| 평균값 | 54.0 | 47.0 | 52.0 | 43.5 |
| 범위 | 31-64 | 33-64 | 46-64 | 25-62 |
| BMI, kg/m ² | | | | |
| 평균값 | 24.8 | 25.8 | 27.0 | 22.2 |
| 범위 | 21.0- 29.0 | 22.6-28.4 | 21.1-29.4 | 21.2-24.3 |
| HCV RNA, log ₁₀ IU/mL | | | | |
| 평균값±SD | 6.28±0.4 7 | 6.54±0.50 | 6.18±0.47 | 6.46±0.41 |
| 대략적 연수 | | | | |
| HCV 감염, | 7.3±7.6 | 9.2±11.5 | 7.2±7.6 | 6.9±6.7 |
| 평균±SD | | | | |
| HCV 아형, n (%) | | | | |
| 1* | 1 (16.7) | 0 | 2 (25.0) | 1 (10.0) |
| 1a | 2 (33.3) | 3 (30.0) | 1 (12.5) | 5 (50.0) |
| 1b | 3 (50.0) | 7 (70.0) | 5 (62.5) | 4 (40.0) |
| 이전 C형 간염 치료, n(%) | 4 (66.7) | 9 (90.0) | 7 (87.5) | 7 (70.0) |

* 환자 4명의 시료는 유전자형 1a 및 1b인지 측정할 수 없었기 때문에 유전자형 1로 분류했다.

BMI, 체질량지수: HCV, C형 간염 바이러스; q8h, 매8시간마다; q12h, 매12시간마다; SD, 표준 편차.

기준선으로부터 HCV RNA 변화, 연구 VX-04-950-101

[0181]

표 2

카테고리마다의 HCV RNA의 최대 변화

| 기준선으로부터 HCV RNA의 변화 (log ₁₀ IU/ml) | 위약 (n=6) | VX-950 | | |
|---|-------------|-------------------------|------------------------|---------------------------|
| | | 450 mg q8h (n=10) | 750 mg q8h (n=8) | 1250 mg q12h (n=10) |
| >-1 to <0 | 6 (100.0) | 0 | 0 | 0 |
| >-2 to ≤-1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| >-3 to ≤-2 | 0 | 1 (10.0) | 0 | 1 (10.0) |
| >-4 to ≤-3 | 0 | 7 (70.0) | 3 (37.5) | 9 (90.0) |
| >-5 to ≤-4 | 0 | 0 | 3 (37.5) | 0 |
| ≥-5 | 0 | 2 (20.0) | 2 (25.0) | 0 |

값은 n(%)이다. q8h, 매8시간마다; q12h, 매12시간마다.

[0182]

[0183] 실시예 6

[0184] 경구 투약 제형은 다음과 같이 제조했다. VX-950과 포비돈 K29/32를 염화메틸렌에 용해시킨 후, 나트륨 라우릴 세레이트를 첨가하고, 용액에 분산시켜 균일한 혼탁액을 만들었다. 이 혼탁액을 90°C 유행 온도 및 56°C 유풀온도로 분무 건조시켜, 산물을 사이클론을 통해 수집했다. 분무 건조된 분산액을 75°C에서 8시간 동안 유체층 (fluid-bed) 건조했다. 수득되는 분말을 유리 바이엘에서 사전칭량하고, 투여 직전에 피검체 투여용수(30ml)에 혼탁시켰다. 투여와 관련하여 각 바이엘을 물의 총 부피가 90ml인 3개의 분할된 물로 세척했다.

| VX-950 고체 분산액 | | |
|---------------|------------|---|
| % (w/w) | 성분 | |
| 49.5 | VX-950 | CH ₂ Cl ₂ 로부터 분무건조됨 |
| 49.5 | PVP K29/32 | |
| 1 | SLS | |

[0185]

실시예 7

[0187] HCV RNA의 검출은 제조원[Roche molecular Diagnostics]에서 입수한 Roche COBAS TaqMan HCV/HPS 분석으로 수행했다. 다른 분석법도 이용할 수 있다.

[0188] 실시예 8

[0189] 혈청 네오프테린 농도는 처리전, 7일째, 14일째 및 후속검사 7 내지 10일째에 정량적 경쟁 ELISA(ELItest® Neopterin, Brahms, Hennigsdorf, Germany)로 측정했다. 검출 하한(LLD)은 2nmol/l였다.

[0190] 실시예 9

[0191] 혈청 ALT는 통용되는 방법으로 측정했다.

[0192] 실시예 10

[0193] 사람 혈장 중의 VX-950 확인

[0194] VX-950

[0195] 스톡 용액: 2-프로판올(10.0ml) 중의 VX-950 0.961mg/ml

[0196] 희석된 스톡 용액 1: 2-프로판올(5.00ml) 중의 VX-950 96.1 μ g/ml

[0197] 희석된 스톡 용액 2: 2-프로판올(10.0ml) 중의 VX-950 9.61 μ g/ml

[0198] 희석된 스톡 용액 3: 2-프로판올(10.0ml) 중의 VX-950 0.961 μ g/ml

[0199] 스톡 용액 및 희석된 스톡 용액은 캡이 있는 보로실리케이트튜브(11.5ml)에 담아 -20°C에서 보관했다.

[0200] 9.1.3 내부 표준(화합물 1)

[0201] 스톡 용액: 2-프로판올(5.00ml) 중의 화합물 1(VX-950의 비슷한 구조 유사체) 1.00mg/ml

[0202] 작업 용액: 아세토니트릴(100ml) 중의 화합물 1 300ng/ml

[0203] 스톡 용액은 캡이 있는 보로실리케이트튜브(11.5ml)에 담고, 작업 용액은 캡이 있는 보로실리케이트병(100ml)에 담아, 함께 -20°C에서 보관했다.

[0204] 시료 제조

[0205] 혈장 100 μ l 일정량, 내부 표준 작업 용액(또는 블랭크 시료용 아세토니트릴)을 추출 튜브에 첨가했다. 30초 동안 볼텍스 혼합 후, 톨루엔 500 μ l를 첨가하고, 30초 동안 볼텍스 혼합하여 추출을 수행했다. 4°C, 3000rpm에서 5분 동안 원심분리한 후, 수성층은 아세톤과 드라이아이스 혼합물에서 동결시키고, 유기층은 다른 추출 튜브로 옮겨 담았다. 2,2-디메톡시프로판 50 μ l를 첨가하고, 약 +30°C에서 질소 하에 시료를 증발 건조시켰다. 잔류물을 햅탄:아세톤(90:10, v/v) [또는 햅탄:THF (80:20, v/v)] 300 μ l에 넣고 60초 동안 볼텍스 혼합하여 재용해시켰다. 시료를 주사 바이엘에 넣고, 60 μ l 일정량을 크로마토그래피 시스템에 주입했다.

[0206] 크로마토그래피 조건

[0207] 이동상: (일정용매 용출) 햅탄:아세톤:메탄올(80:19:1, v/v/v)

[0208] 구성 용매: 아세토니트릴:아세톤:메탄올:포름산(40:60:1:1, v/v/v/v)

[0209] 컬럼 온도: -1°C

[0210] 유속: 1.00ml/분(이 중에서 0.750ml/분은 이동상이고 0.250ml/분은 구성 용매이다)(검출기로 완전 이동됨)

[0211] 주입량: 60 μ l

[0212] 자동시료채취기 온도: +3°C

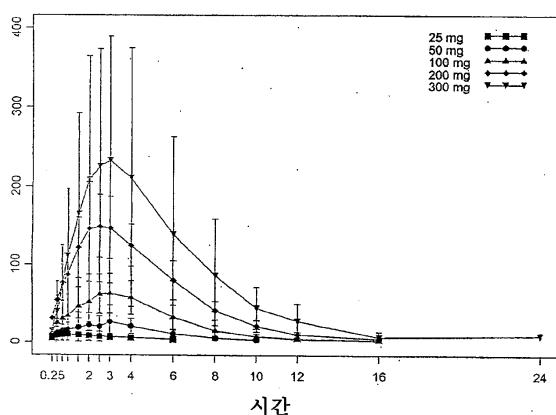
[0213] 추가 참조문헌

- [0214] Wasley A, Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C: geographic differences and temporal trends. Semin Liver Dis 2000;20 : 1-16.
- [0215] Alter HJ, Seeff LB. Recovery, persistence, and sequelae in hepatitis C virus infection: a perspective on long-term outcome. Semin Liver Dis 2000;20 : 17-35.
- [0216] Brown RS Jr, Gaglio PJ. Scope of worldwide hepatitis C problem. Liver Transpl 2003;9 :S10-S13.
- [0217] DeFrancesco R, Migliaccio G. Challenges and successes in developing new therapies for hepatitis C. Nature 2005;436(7053) :953-60.
- [0218] Bowen DG, Walker CM. The origin of quasispecies : cause or consequence of chronic hepatitis C viral infection? J Hepatol 2005;42:408-17.
- [0219] Hoofnagle JH. Course and outcome of hepatitis C. Hepatology 2002;36 :S21-S29.
- [0220] Brown RS Jr. Hepatitis C and liver transplantation. Nature 2005;436 (7053) :973-8.
- [0221] Chisari FV. Unscrambling hepatitis C virus-host interactions. Nature 2005;436 (7053) : 930-2.
- [0222] 본 명세서에 인용된 모든 문서들은 본원에 참고인용되었다.
- [0223] 이상, 본 발명의 다수의 양태를 설명하였지만, 기본 예는 변경되어 본 발명의 화합물과 방법을 이용하는 다른 양태를 제공할 수 있음을 분명하다. 따라서, 본 발명의 범위는 이전 실시예를 통해 대표된 특정 양태가 아닌 이하 청구의 범위에서 한정되는 것으로 이해되어야 한다.

도면

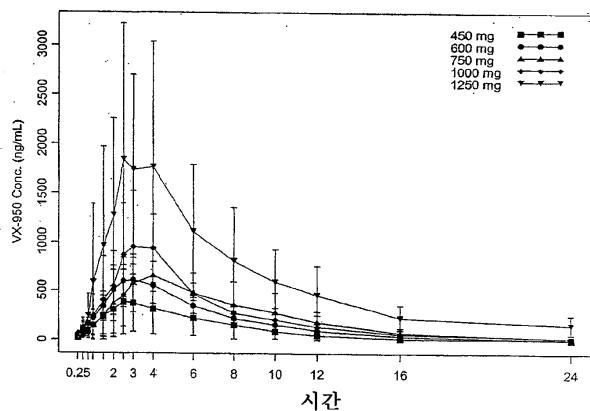
도면1a

투여량 수준에 의한 평균 농도 시간 프로필

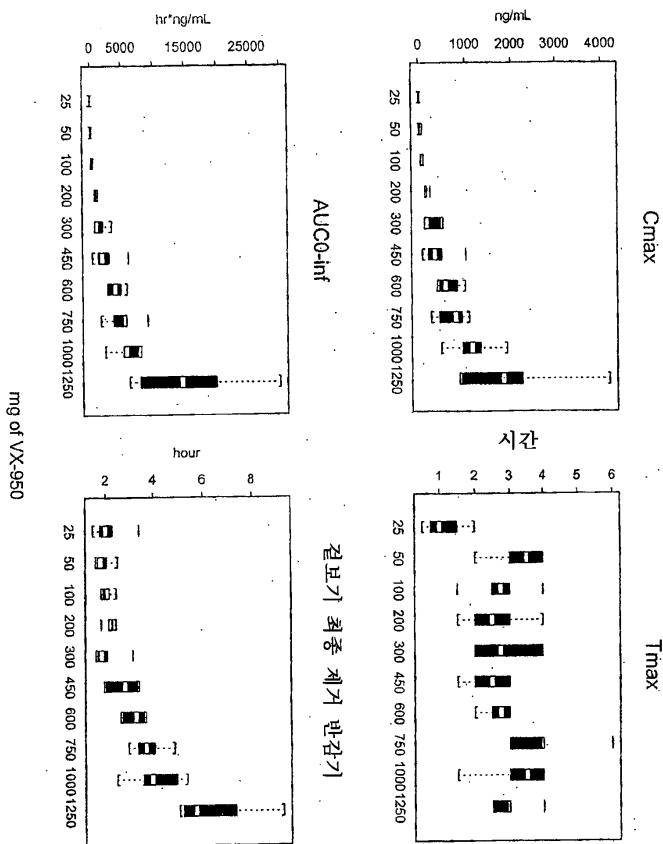


도면1b

투여량 수준에 의한 평균 농도 시간 프로필



도면2

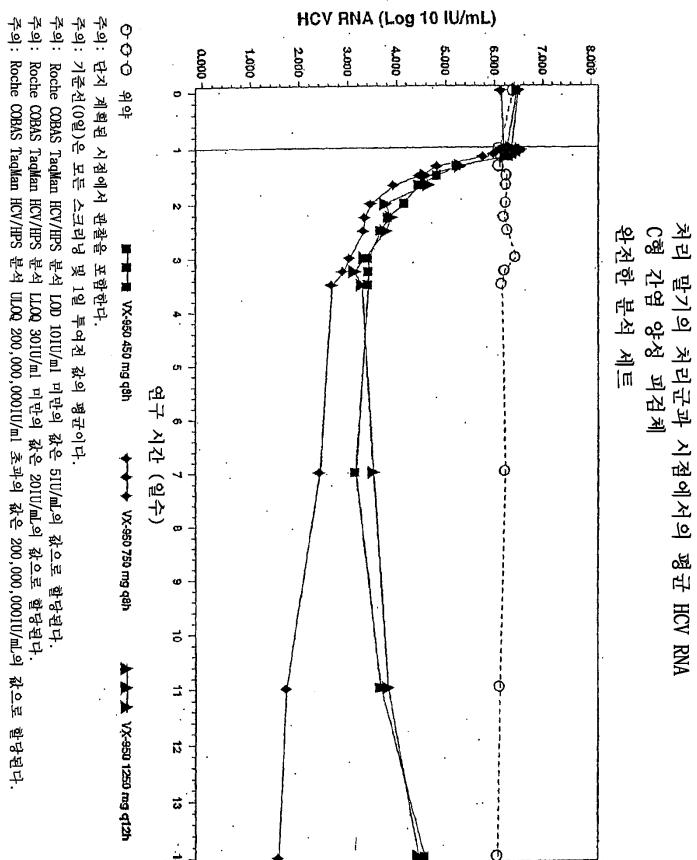


단일 투여 상승을 위한 PK 파라미터 (파트 A)

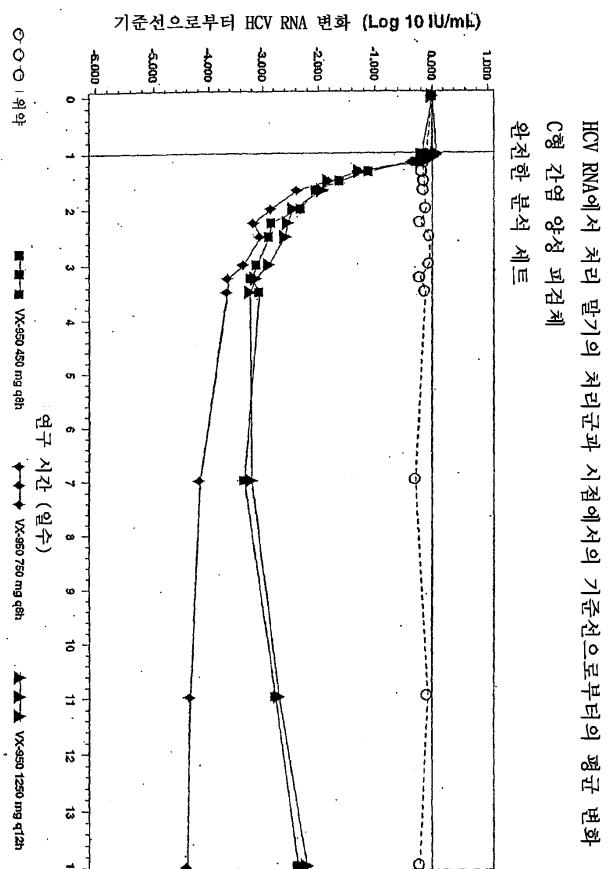
A-D

C_{max}, TmaxT_{1/2}

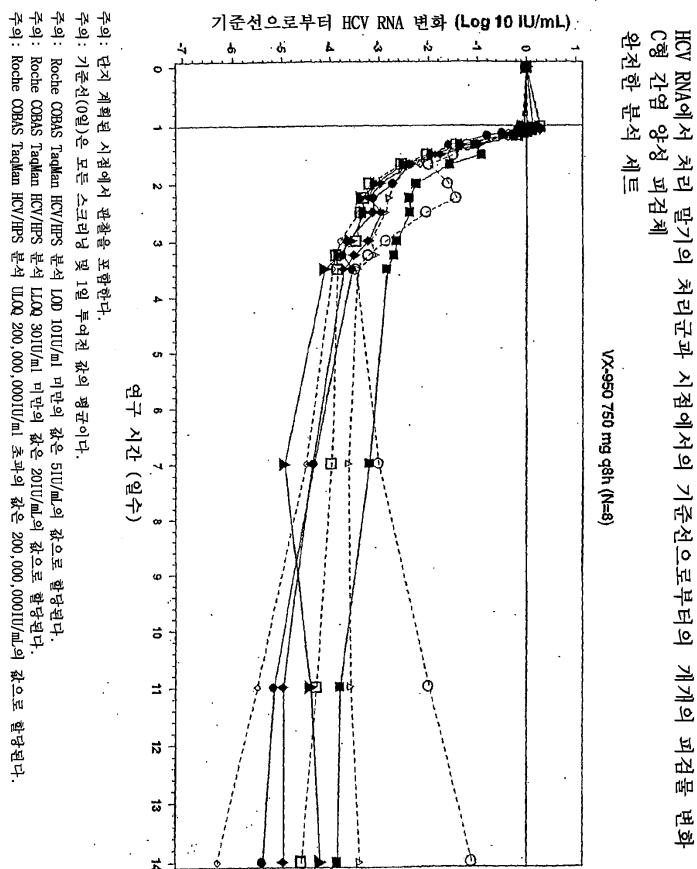
도면3



도면4



도면5



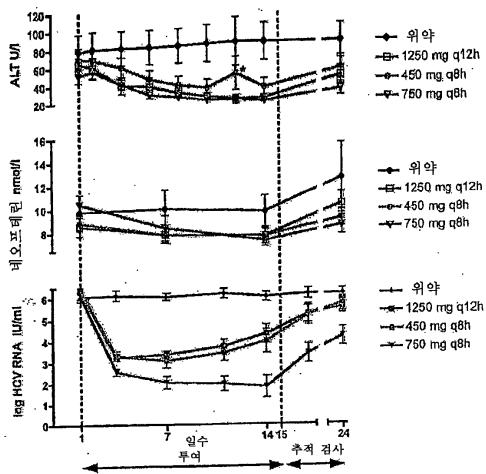
주의: 단지 계획된 시점에서 관찰을 포함한다.

주의: 기준선(0일)은 모든 스크리닝 및 1일 뒤 얻은 값의 평균이다.

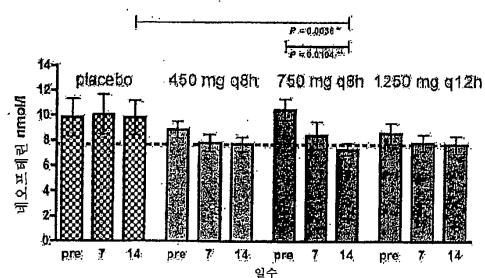
주의: Roche Cobas TaqMan HCV/IPS 분석 LLOQ 30IU/ml 미만의 값은 20IU/ml의 값으로 할당된다.

주의: Roche Cobas TaqMan HCV/IPS 분석 ULQ 200,000,000IU/ml 초과의 값은 200,000,000IU/ml의 값으로 할당된다.

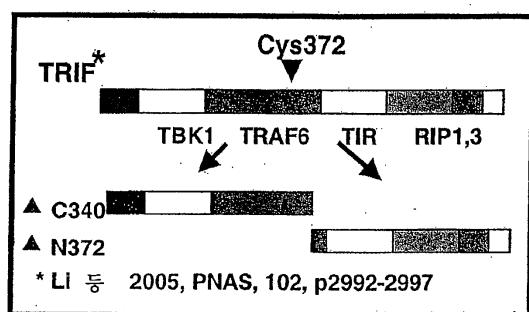
도면6



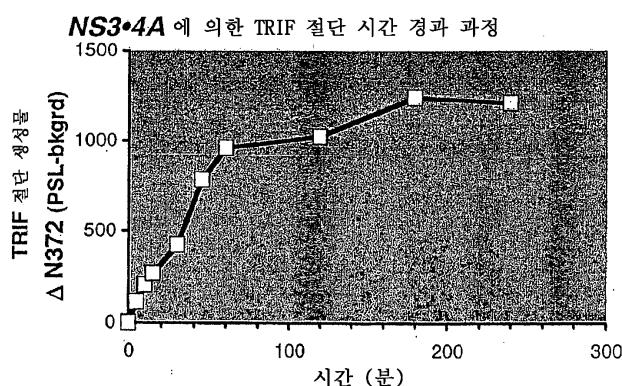
도면7



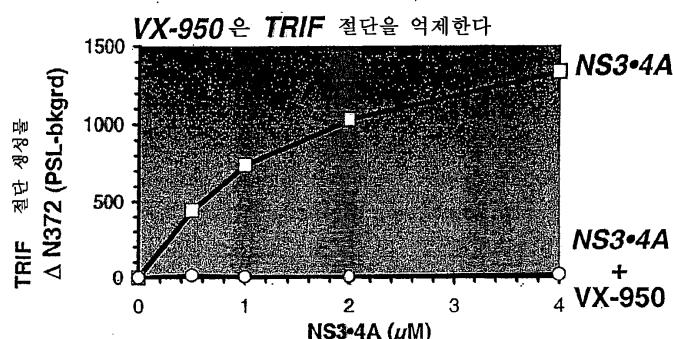
도면8



도면9



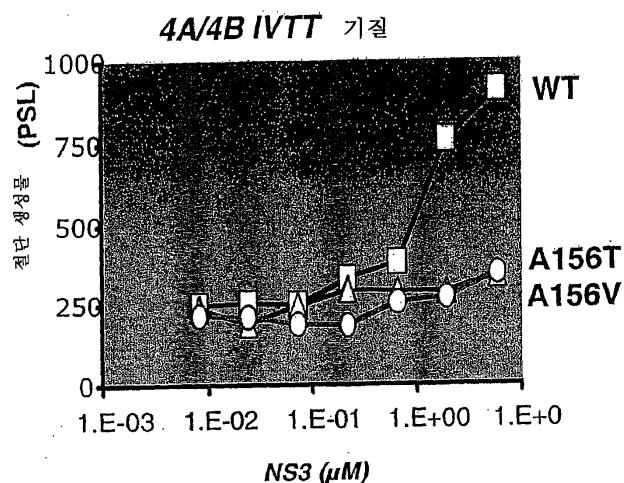
도면10



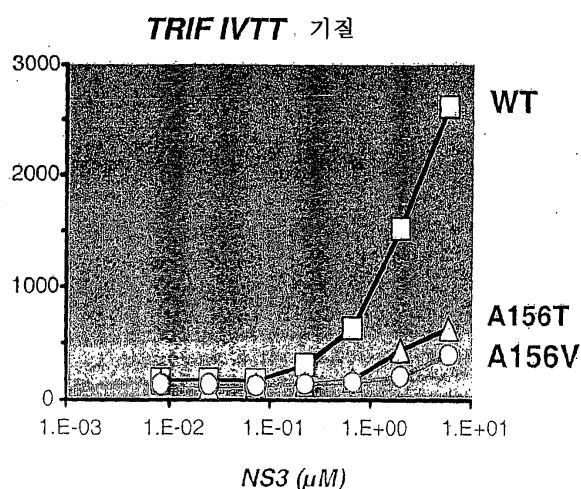
도면11

| WT에 대한 배수 증가 | VX-950 | | 프로테아제 Kcat/km |
|-----------------|----------------|------------------|------------------|
| | K _i | IC ₅₀ | |
| A156V | 330 | >75 | 0.25 |
| A156T | 99 | >75 | 0.1 |

도면12



도면13



도면14

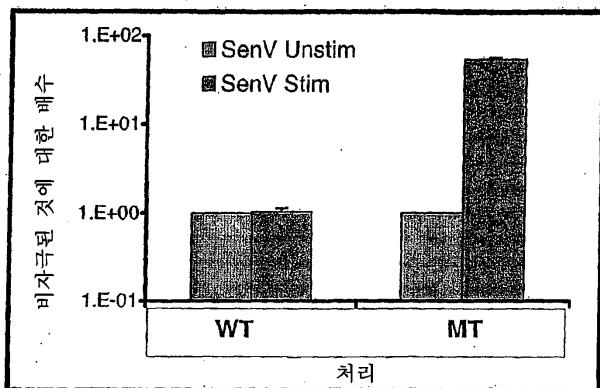
| 제공 기준선 | VX-950 450 mg q8h (= 총 1350 mg) n = 10 | VX-950 750 mg q8h (= 총 2250 mg) n = 8 | VX-950 1250 mg q12h (= 총 2500 mg) n = 10 |
|---|---|--|---|
| 제공 log HCV RNA | 6.42 | 6.14 | 6.41 |
| 제공 log HCV RNA - 7일째 IU/ml (기준선으로부터 감소) | 3.08 (-3.33) | 2.04 (-4.10) | 3.38 (-3.03) |
| Mean log HCV RNA - 14일째 IU/ml (기준선으로부터 감소) | 3.98 (-2.43) | 1.81 (-4.33) | 4.32 (-2.09) |
| 제공 기준선 비오르데린 | 6.88 | 10.48 | 8.59 |
| 제공 비오르데린 - 7일째 nmol/l (기준선으로부터 증가) | 7.04 (-1.05) | 8.43 (-2.04) | 7.85 (-0.74) |
| 제공 비오르데린 - 14일째 nmol/l (기준선으로부터 증가) | 7.74 (-1.14) | 7.32* (-3.16) | 7.72 (-0.88) |
| Mean baseline ALT U/l | 71 | 52 | 68 |
| 8주제 제공 ALT U/l (기준선으로부터 감소) | 41 (-30) | 28 (-24) | 33 (-33) |
| 14일제 제공 ALT U/l (기준선으로부터 감소) | 38 (-33) | 23 (-20) | 26 (-41) |

* 750mg(8h) 투여 그룹에서의 감소는 동일한 그룹내에서 기준값
(평균 웨트니 시험, p=0.0104) 및 14일째 위약 그룹(상용 이루어지 않은
투-레이드 T-시험, p=0.0036)에 대해 상당하다.

도면15

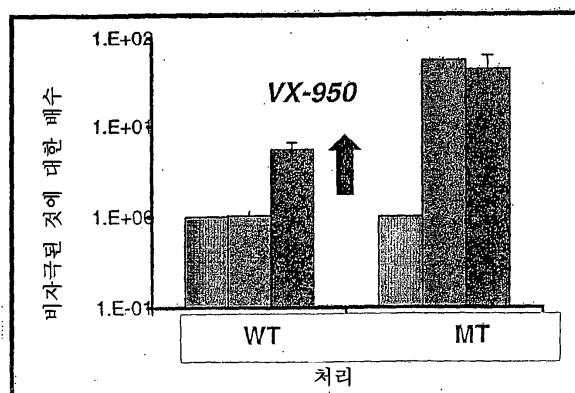
IFNβ-Luc 및 *NS3•4A*의 *Huh7* 세포

센다이 바이러스 자극 후 *IFNβ* 유도

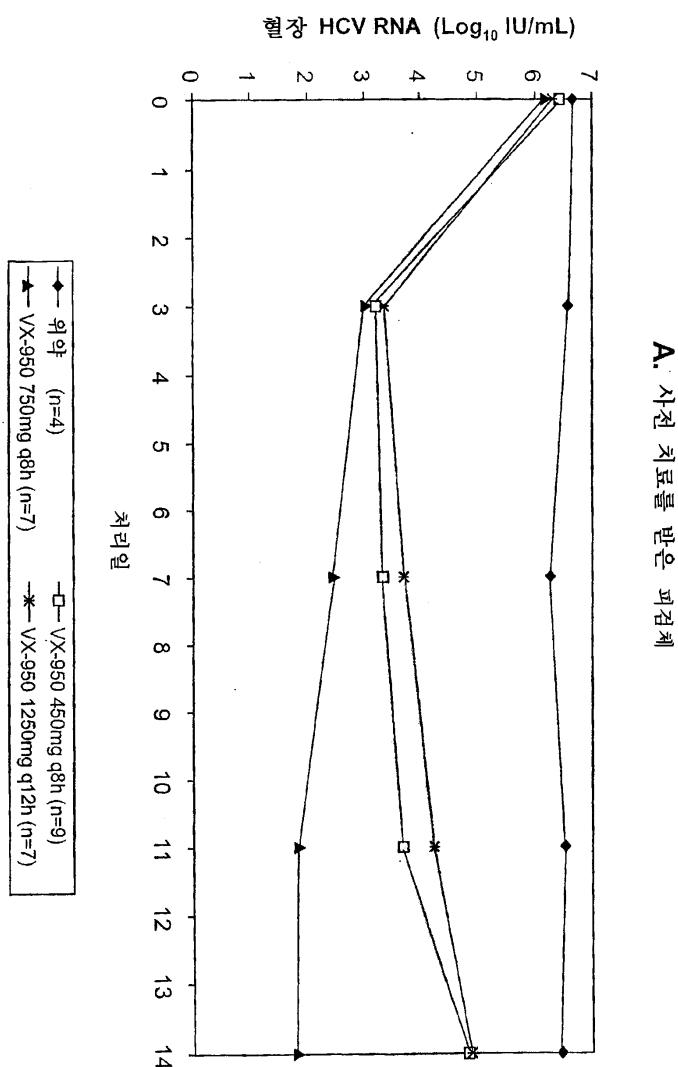


도면16

VX-950 의 첨가



도면17a



도면17b

